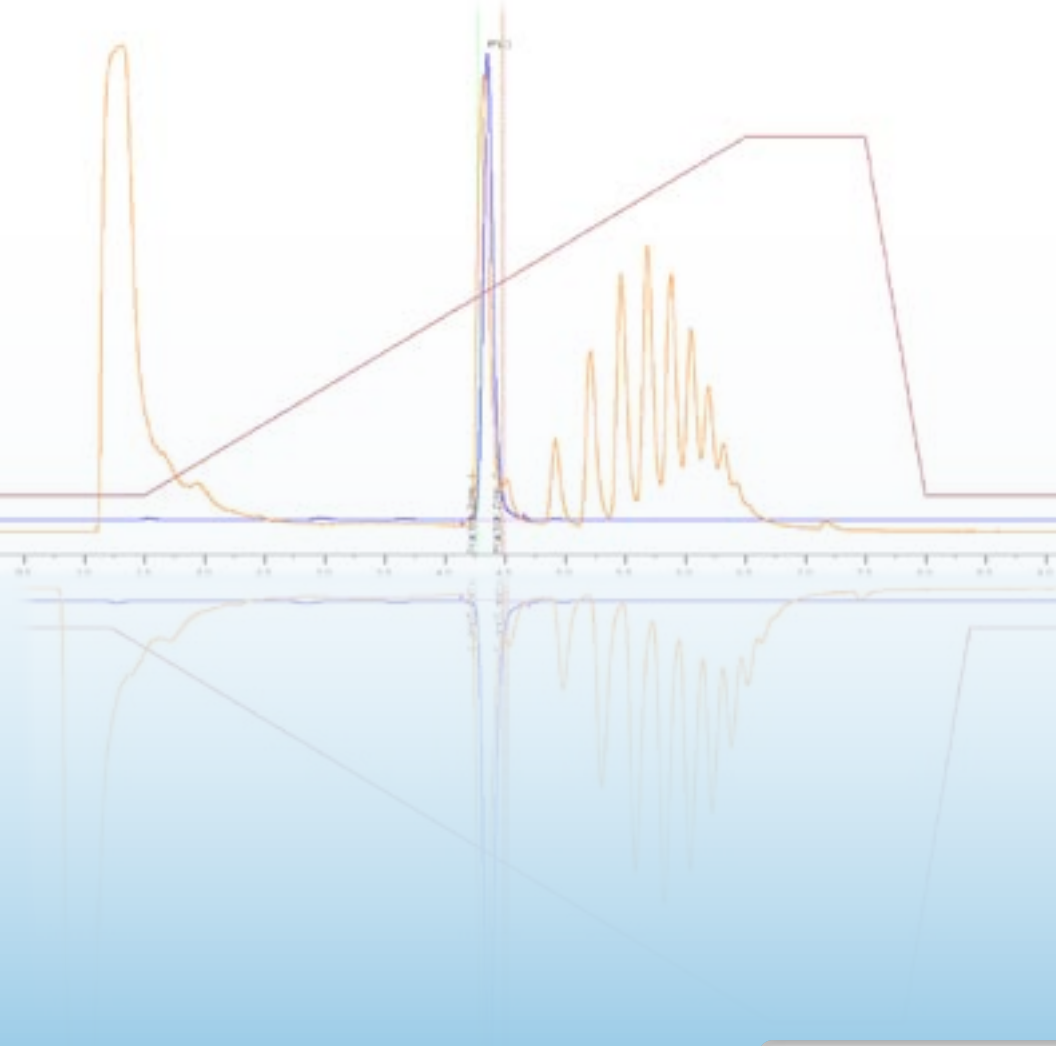
HPLC Troubleshooting Guide

HPLCトラブルシューティングガイド



GILSON®

本書をご使用頂くにあたって

このガイドは、HPLCのよくある問題の原因を特定して解決することができるように、体系的かつ各部分ごとに説明された構成になっています。本ガイドに掲載された技術は、Gilson 社のHPLC システムについて、より理解を深め、お客様の実験室において最適にご使用頂くためのものです。

- 目的:
  - よくある問題を迅速に特定しやすくすること
  - 問題の解決法をリスト形式で掲載
- 利点:
  - Gilson のシステムについて、さらに詳しく知ることができる
  - 系統だったトラブルシューティングの要点が説明されている
  - 参考になる簡単なテクニックとコツがコンパクトにまとめられている

Gilson 社のHPLC システムをご使用になるにあたって、本ガイドを参照してください。
本ガイドは、Gilson のHPLC システムの多様な構成機器について理解することを目的にしています。もし、問題に対する適当な答えが見つからない場合は、弊社までお問い合わせください。

目　次

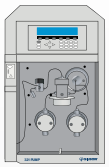
Gilson HPLC の構成 2
トラブルシューティング　—　はじめに。 4
主なガイドライン 4
HPLC トラブルシューティングチェックリスト 5
問題を切り分けて原因を特定する 6
ソフトウェア 6
ハードウェア 8
定期点検プログラム 11
システム 11
コンピュータ 23
実験室と設備 23
キャリーオーバーを理解する 24
溶媒の選択がキャリーオーバーに与える影響について 24
リンスおよびインジェクションの手順を最適化することにより、キャリーオーバーを低減する方法 24
プローブの選択がキャリーオーバーに与える影響について 26
配管がキャリーオーバーに与える影響について 30
プローブ &トランスファーチューブの選択 32
キャリーオーバーのトラブルシューティング 34
ハードウェア機器のトラブルシューティング 36
ポンプ 36
バルブ 37
ディテクター 38
オートリキッドハンドラー／インジェクター 40
フラクションコレクター 41
終わりに 44
Appendix A: 流量に対するPEEK チュービングの圧力 45
Appendix B: カラムサイズと負荷容量 46
Appendix C: チュービングの内径と容量 47
Appendix D: 圧力単位変換表 48
Appendix E: 溶媒極性表 49

Gilson HPLC の構成

機器のイラストをクリックすると、関連ページに移動します。

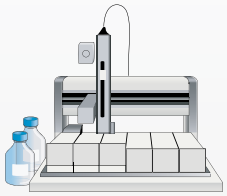
ポンプ

インジェクションループからシステム流路にサンプルを送る移動相フローを形成し、アプリケーションで使用されるグラジェントプロファイルを作ります。



リキットハンドラー／インジェクター

サンプルをインジェクションする前に、制御ソフトウェアのメソッド（例； 濾過、希釈など）により、多数のサンプルの前処理を行います。



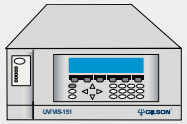
バルブ

多様なアプリケーションで使用することができます：

- リンス、ダイリューション用溶媒の選択
- カラムの切り換え（カラム2 本から6 本以上）
- 再生またはバックフラッシュにより2 本のカラムを切り換え
- 複数のフラクションコレクターを切替える
- その他多くのアプリケーション

ディテクター

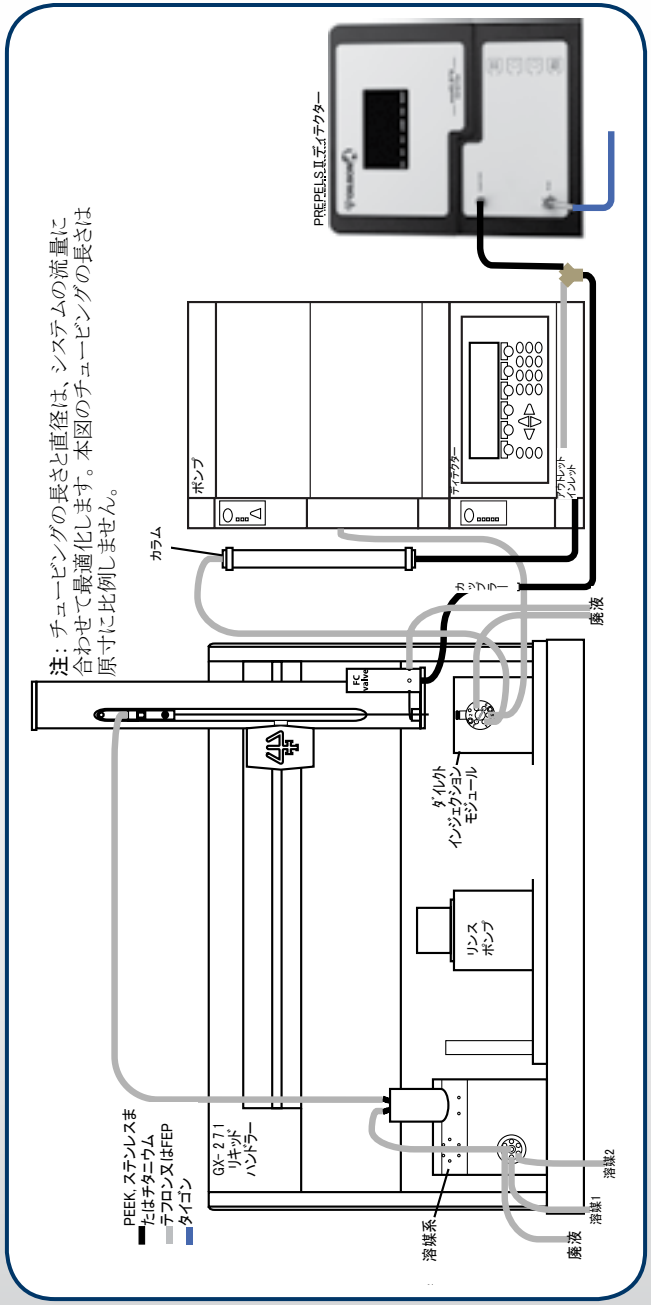
ディテクターは分析したい化合物に合わせて選択します。
検出シグナルはソフトウェアに送られ、クロマトグラムとして表されます。
シグナルは、フラクションコレクターによるピーク分取にも利用されます。
ディテクターには、アナログとデジタルいずれのタイプもあり、また、
吸光度、光散乱、スペクトル、蛍光、質量分析を利用したものなど、
その種類は多様です。



フラクションコレクター

目的物を単離するため、カラム溶出液をディテクターのアウトレットチュービングからフラクション容器に分取します。
フラクションコレクターは、HPLC システムの外付けの装置として使用することも、あるいは、3ウェイバルブを用いて、リキッドハンドラー／インジェクターの機能に組み込んで使用することもできます。

HPLC システムおよびフローパスの例：



注：チュービングの長さと直径は、システムの流量に合わせて最適化します。本図のチュービングの長さは原寸に比例しません。

トラブルシューティング — はじめに。

主なガイドライン

問題の一因となっていると考えられる箇所を突き止めることにより、問題の原因を特定します。

- トラブルが発生した時、処置を行う前に、お使いのシステムをよく調べ、初期症状を書き留めておいてください。
- 右ページのチェックリストをご利用ください。

解決策を試みる場合は、一度に1通りだけを行ってください。一度に複数を行わないでください。

- 時間はかかるかもしれませんが、真の問題が明らかになります。
- 真の問題が明らかになることで、問題の内容を把握し再発を防ぐための解決策を考えることができるので、無駄な時間を費やさずにすみます。

システムの各部分を個別にチェックしてください。

- 各コンポーネントの全般的な機能状態をチェックして、問題のある箇所を特定してください。
- ポンプシステムから検証を始め、フローパスまで実施し、各部が良好に作動していることを確認してください。

ブランクでインジェクションを行ってください。

- このとき、ハードウェアの各コンポーネントが正常に働いていることを目視で確認してください。
- データ信号が、通常のベースラインノイズを示しており、何らかの顕著な吸収がないことを確認してください。

HPLC トラブルシューティングチェックリスト

✓	トラブルの内容
	1. コンピュータ画面にソフトウェアのエラーメッセージが表示されましたか？ Yes の場合、エラーメッセージのスクリーンショット／画像をキャプチャーしてください（キーボードの’Alt’ と’PrintScreen’ のキーを同時に押して、画像をキャプチャーし、ドキュメントファイルに貼り付けてください）。
Notes:	
	2. ハードウェアシステムコンポーネントについて、エラーが出ていますか、あるいは赤のエラーランプが点灯していますか？ Yesの場合、ハードウェアのユーザーガイドのエラーメッセージおよびエラー番号／コードのリストを参照してください。 Yesの場合、表示されたエラーナンバーおよびシステムのコンポーネント名を書き留めておいてください。
Notes:	
	3. システムの液漏れ、テストチューブの破損、プローブの曲がりなど、目で見える注意すべき兆候がありますか？ Yesの場合、目で観察したことを書き留めておいてください。
Notes:	
	4. クロマトグラフィーに注視すべき変化がありますか？ Yesの場合、どんな変化があり、またそれがいつ起こったのかを書き留めておいてください。
Notes:	
	5. その他、観察されたことがあれば、書き留めておいてください。
Notes:	

問題を切り分けて原因を特定する

ソフトウェア

一般に、HPLC システムを運転するようにプログラムされているソフトウェアに問題の原因がある場合、簡単なトラブルシューティングを行うことで、問題のある箇所を特定しやすくなり、発生源と考えられる部分を切り分けることができます。

エラーメッセージ &ログファイル

Gilson のTRILUTION® LC ソフトウェアでは、1つのアプリケーションで多数のメソッドを実行することが可能です。メソッドを実行するたびに、ログファイルに入力データが記録され、Gilson　HPLCシステムの各コンポーネントの時間と動作が表示されます。

Project Libraryの画面からログファイルを呼び出してください。
Resultsのフォルダーを開くには、Application 内でダブルクリックしてください。そして、メソッドの名前を右クリックして、View Log を選択します。

ログファイルは、txt.ファイルとして閲覧と保存ができます。語句のエラーを検索するには、Edit/Find のオプションを使います。ログにエラーがあると、エラーの発生した日時が強調表示されます。

ソフトウェアエラーのトラブルシューティングの主な内容はは、実行しているメソッドにおいて、いつエラーが発生したかを理解し、同じメソッドで次のランを行う際の再発を予測することです。ログファイルから、メソッド名およびエラーの発生時、メソッド中のどんなタスクが実行されていたかがわかります。何度もエラーメッセージが出て、メソッド中の簡単な間違いを指摘します;ただし、記録されているすべてのエラーが直接ソフトウェアに関連するものとは限りません。ログファイルに記録されているハードウェアのエラーもあります。

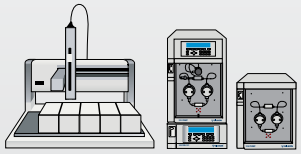
ソフトウェアのトラブルシューティングのチェックリスト

✓	ソフトウェアのトラブルシューティングのチェックリスト
	1. エラーが発生したTRILUTION® LC メソッドを記録します。
	2. メソッドのどの時点でエラーが記録されたのかを、ログファイルから記録します。
	3. 問題となっているメソッドを開きます。 ☐ 各タスクの時間を調べて、推奨されたMethod Skelton ドキュメントと比較します。(Method Skelton ドキュメントは、TRILUTION® LC のインストール用 CD と共に発送された Quick Start Tutorial CD-ROM に入っています。) ☐ データコレクションスタート前、タスクとタスクの間は0.02分以上空いていなければなりません。 ☐ データコレクション終了後、タスクとタスクの間は0.1 分以上空いていなければなりません。 ☐ ホームとすべてのリキットハンドリングのタスク(例えば、希釈、リンス等)は、リキッドハンドリングのタスクの終わりに、同期のタスクの入力が必要です。 ☐ インジェクションのタスクは、Method Skelton ドキュメントの推奨事項に従います。 ☐ ベッドレイアウトに、ライザーブロック、ラック等の必要なエレメントが含まれていることを確認してください。 ☐ 各構成機器に合った正しい情報を用いて設定が行われいていることを確認してください。
	4. メソッドに必要な変更を行い、それらの変更を保存してください。
	5. リキッドハンドラーからプローブを取り外した後、問題となっているメソッドを再試行して、エラーの再生を試みてください(プローブを取り外した状態のリキッドハンドラーに、送液用チュービングから液体が流れることがあるので注意してください)。
	6. メソッドを変更しても同じエラーが再発した場合、問題が特定されていなかったことになります。メソッドをもう一度開いて、調べ直してください。
	7. メソッドを変更した結果、新たなエラーが発生する場合、問題の特定により近づいたと考えられます。そのエラーが発生した箇所を突き止めて、メソッドをもう一度開いて、調べ直してください。
	8. システムおよびメソッドを調べ直した結果、ハードウェアにエラーが発生したことがわかったら、ハードウェアのエラーの原因となるソフトウェアエラーが発生していた可能性があります。まず、次のセクションの「よくあるソフトウェアメソッドエラーを特定する」をご覧になった上で、本書の7 ページの「ハードウェア」および35 ページの「ハードウェア機器のトラブルシューティング」を参照してください。

よくあるソフトウェアメソッドエラーの原因を特定する：

問題	考えられる原因	解決策
プローブが折れる	ホームとリキッドハンドリングタスクが同期していない	すべてのホームとリキッドハンドリングタスクの終わりが同期していることを確認してください。
	タスクのスケジュールが詰まり過ぎている（Method Skelton document で示されたタイムラインに従っていない）。	タスク間のスペースが少なすぎる： データコレクションスタート前、0.02 分 データコレクション終了後、0.1 分が必要。
	ベッドレイアウトに不適切なエレメントを使用している	リキッドハンドラーの設定に従って、ライザーブロックおよびラックライザーが使用されているか確認してください。エレメントを右クリックするか、Hide を選択して、ライザーがあるかないかを確認してください。画面を拡大して、隠れたライザー（使用されている場合）を表示してください。もう一度、右クリックして、Show All を選択してください。
リキッドハンドラーのZ-ターゲット値のエラー	タスクのZ-depth の値が、リキッドハンドラーの設定には小さ過ぎて、現在のプローブおよびクランプに届かない	125mm プローブおよびクランプ高さ>175mm を設定している場合、Z-depth は容器／ウェルの底から20mm 以上に設定して、テストしてください。
フラクションコレクターが作動しない No Fraction Collected というメッセージが表示された	メソッドにおけるタスクの順序が間違っている	Method Skelton document の推奨事項に従って、Fraction Collection Settings またはSet Fraction Sites/Set Multiple Fraction Sites のタスクを、メソッドにおいて正しい時間に設定してください。

ハードウェア



ハードウェアの問題は、ソフトウェアのプログラミングの誤り、設置時の配管または配線のミス、不適切な保守メンテナンス、点検修理が必要となる装置の誤作動が原因で起こります。問題の原因の分離と特定は、一連の一般的なシステムチェックを系統的に取り除いて行われます。
システムチェックが問題の原因として除かれた時、しばしば問題の真の原因が明らかになることがあります。

通信および配線

Gilson のHPLC システムは、TRILUTION ソフトウェアパッケージを介し、システム内で特異的に認識されたコンポーネントと通信します。システムコンポーネントがTRILUTION 内で見つからないというエラーメッセージが出たら、まず、システムコンポーネントの電源が正しく入っているかを調べてください。各コンポーネントには、電源用インジケータランプがあります。

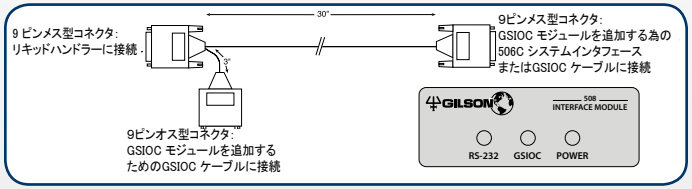
各コンポーネントの電源が入っていることを確認した後、通信状態をもう一度調べます。TRILUTION ソフトウェアを閉じてください。
注：各コンポーネントの通信モードの確認は、各コンポーネントのユーザーガイドをご利用ください。

1. GSIOC 通信機能を備えたすべてのGilson 社製コンポーネントがGSIOC Utility から正しくスキャンインするか確認してください。お使いのコンピュータのデスクトップに、GSIOC Utility のアイコンがあります。ダブルクリックして開くか、またはStart/All Programs/Gilson Applications/Utilities を呼び出してください。

Gilson GSIOC Utility

すべてのGSIOC コンポーネントは、スキャンが完了したら、Unit ID ボックスに表示されます。この一覧に照らし合わせて、お使いのGilson HPLC GSIOC システムのコンポーネントを確認してください。

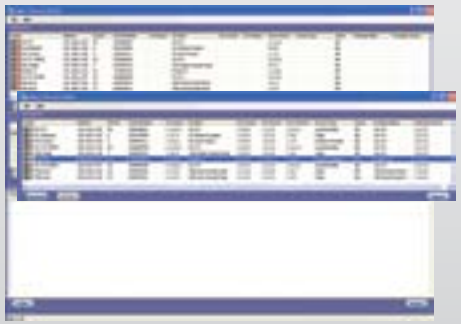
もし見当たらないコンポーネントがあれば、システムのGSIOC の配線が正しいか調べてください。GSIOC ケーブルは、その隣のGSIOC ケーブルの短い9ピンオス型コネクタに取り付けた、長い9ピンメス型コネクタに接続します。短い9ピンメス型コネクタ（下図の一番左）は、Gilson の装置に接続します。すべてのGSIOC コンポーネントは、デージーチェイン接続を行う必要があります。システムにインタフェースモジュールが装備されている場合は、508 インタフェースモジュールまたは506C インタフェースモジュールを、RS-232 ケーブルを用いてコンピュータと接続します。



2. Ethernet 通信機能を備えた、Gilson社製コンポーネントがシステムに含まれる場合、すべてのコンポーネントがGilsonEthernet Utility により良好にスキャンインされていることを確認してください。お使いのコンピュータのデスクトップにEthernet Utility のアイコンがあります。ダブルクリックして開くか、Start/All Programs/Gilson Applictions/Utilities を呼び出してください。

Gilson Ethernet Utility

すべてのEthernet コンポーネントが一覧表示されます。通信状態を確かめるには、コンポーネント名をハイライト表示にして、Connect ボタンを押してください。通信が有効な時、コンポーネント名の隣のアイコンが変わり、列の全情報が表示されます。すべてのコンポーネントについて、これを確認してください。



見つからないコンポーネントがあれば、システムのEthernet ケーブルとルーターとの接続状態が良好であるか確かめてください。どのEthernet コンポーネントもルーターと直接接続されていなければなりません。コンピュータもルーターに接続されている必要があります。

Address の欄に192.XXX.X.XXX というIP アドレス以外の情報が表示されたら、Ethernet コンポーネントの電源を切り、Gilson のEthernet Utility を閉じてください。5分間待ってから、Ethernet コンポーネントの電源を入れます。Gilson のEthernet Utility を開き、Ethernet コンポーネントを再接続してください。これら一連の操作を行っても、すべてのEthernet コンポーネントと通信ができない場合は、ルーターの電源接続箇所の隣の小さいボタンにより、ルーターをリセットする必要がある可能性があります。

Gilson のEthernet Utility を閉じてください。

調整不良／オフセット

システムを目視検査して、Gilson のリキッドハンドラーにおいて以下のような調整不良があれば、修正する必要があります:

- プローブが曲がっている
- プローブをさらに点検した結果、先端が完全にまっすぐになっていないかバリが見られる
- プラットフォーム上のラックが傾いている
- インジェクションポートを点検した結果、プローブの当たりが中心を外れる

X、Y のポジショニングを補正するために、調整やオフセットを適切に行うプロセスやプログラムについては、Gilsonのリキッドハンドラーの各ユーザーガイドに詳しい説明があります。ユーザーガイドに書かれているツールをお持ちでなければ、弊社のテクニカルサポートまでお問い合わせください。

コンポーネントの誤作動

Gilsonハードウェア製品は信頼性が高くかつ丈夫ですが、時間が経つにつれて、ハードウェアの一般的性質により、製品の寿命が来る前に不具合が生じることがないとはいえません。どんな時に不具合が発生するかを知る手がかりは大変重要であり、どのGilson ハードウェア製品も潜在的な問題を解く手掛かりを提供します。

次の表の情報は、弊社のテクニカルサポートにお尋ね頂く際に大変重要です。原因を特定し、その状況に対し最良の解決策を見出すための次のステップとして、弊社にご連絡ください。

Yes	No	ハードウェアコンポーネントの問題チェックリスト
		1. どんなエラーが発生して、それがいつ起こったのか？ 注:ログファイルのアクセス方法は、「エラーメッセージ＆ログファイル」 の説明を参照してください。
		2. 電源を切った後に、電源が入りますか？
		3. 電源を入れてすぐ、エラーが発生しますか？
		4. Ethernet Utility またはGSIOC Utility を介して通信していますか？
		5. Ethernet Utility またはGSIOC Utility を使ったコマンドに、エラーがなく応答していますか？ *注： GSIOC Utility を使ってコマンドを送るには、ユーザーガイドのGSIOC の説明を参照して下さい；Ethernet コンポーネントにコマンドを送るには、ソフトウェア内のEthernet Utility コマンドリストを参照して下さい。*
		6. 同じTRILUTION メソッドをエラーなく実行できますか？

定期点検プログラム

エムエス機器では、納入後の保証期間終了後も当社がご提供した高速液体クロマトグラフィーシステムを、その優れた基本性能を維持し末永く安心してご使用戴けるよう様々なカスタマーサポートを実施しています。

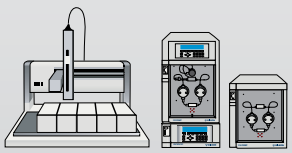
サービスの内容
- 消耗品交換を含む各コンポーネントおよびシステムの点検・性能検査を実施します。
- 所定の点検結果報告書を提出します。
- システムを構成するコンポーネントの種類および台数により、契約料金をお見積もりします。

サービスの種類
以下3点の基本プログラムをご用意しております。
- 定期点検プログラム
- 定期点検つき保守契約プログラム
- 保守契約プログラム

詳細は、弊社までお問い合わせ下さい。

システム

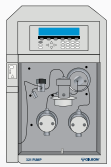
システムの問題は、流路や配管のミス、圧力の問題、カラムクロマトグラフィーの問題に起因していることがあります。システムの流路および配管について理解し、基本的なシステムチェックを実施し、HPLC に特有の基本的なクロマトグラフィーの問題を理解することで、システムの問題を切り分けて特定することができます。



流路と配管の接続

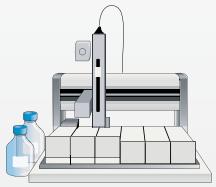
GilsonのHPLCシステムは、実験室で最大の性能を得られるように設置します。インジェクションあるいはインジェクションとフラクションコレクションを行なうために、システムが最適な状態にあることを確認することは重要なことです。さらに、システム内部に変化がないことを確認することも大切です。Gilson のHPLC 前部の流路を目視でたどることで、チュービングが切断したり、流れが悪くなったり、狭窄している箇所があれば、容易に見つけることができます。

ポンプ系統の確認



- ポンプの赤色エラーランプの点灯またはエラー表示がないか
- インレットチューブの狭窄およびエアーの混入がないか
- 移動相ボトルの液量が十分であるか
- 移動相に汚れが無く、移動相容器のインレットフィルターに残留物が付いていないか
- ポンプヘッドに液漏れがないか
- アウトレットチュービングがアウトレットフィルターに適切に接続しているか

リキッドハンドラーおよびインジェクターの確認

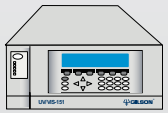


- インジェクターのエラー表示は出ていないか
- リキッドハンドラーに、エラーコードやエラー表示は見られない
- GX Solvent System のLED が点灯しているか
- インジェクションバルブに液漏れは見られないか(インジェクションバルブの周辺に、サンプル／溶媒の乾燥した残留物が付いていない)
- インジェクションバルブの配管に損傷がなく、チュービングの狭窄がないか;
- インジェクションポートに液体が付いていないか、またプローブによる損傷がないか;プローブを取り外し、プローブに損傷が無く、先端にバリがないか確認する
- トランスファーチューブに汚れが無く、空気の混入がないか
- シリンジピストンシールに汚れが無く、シリンジに粒子が付いていないか
- リザーバーのトランスファーチューブに汚れが無く、リザーバーの溶媒はインレットフィルターに残留物がなく、きれいであるか

システムの他のバルブの確認

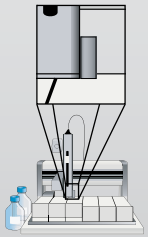
- バルブにエラー表示はないか
- インジェクションバルブの配管およびチュービングに狭窄がないか

ディテクターの確認



- ディテクターの赤色エラーランプまたはエラー表示が出ていないか
- カラムからの配管およびチュービングに狭窄がないか
- フローセル部にリークがないか
- フローが>10mL/min. の場合、アウトレットチュービングは、バックプレッシャーレギュレータではなく、ユニオンに接続されているか

フラクションコレクターの確認



- コレクションチュービングが、フットより約2mm 長く下がっているか
- ディテクターのアウトレットユニオンからフラクションコレクションバルブに接続されているチュービングの長さが、フラクションコレクターアームをベッドスペースいっぱいに自由に動かすのに十分であるか
- 廃液用チュービングの直径がコレクションチュービングの直径よりも大きいか

システムの初期化

操作を始める前の適切なシステムの処理をシステムの初期化と言います。これは、システムにエアーの混入がなく、操作流量における圧力下で正確に送液できるように、すべての液体ラインが適切に満たされることを確実にするために行ないます。
システムの初期化には、TRILUTIONソフトウェアパッケージのご使用をお勧めします。専用のメソッドまたは手動制御でも可能です。

初期化について:

リキッドハンドラーおよびポンプのホーミング
- シリンジやソルベントポンプが送液容量を残している場合、指定されたリンス位置に装置が来ることを確認する

プライミング
- シリンジやソルベントポンプからプローブまでの送液用チュービングを満たす為にリザーバー溶媒を吸引および吐出する

リンス
- インサイドリンス(プローブの内側を洗浄する)
- アウトサイドリンス(プローブの外側を洗浄する)
- インジェクションポートリンス (リキッドハンドラーのインジェクションポートを洗浄する)

移動相流量のランピング
- システムの移動相からの送液を、最終流量に達するまでの一定の時間、勾配をつけて上げる(カラムを圧力の衝撃から守るため)

圧力

HPLC システムには、圧力の低い状態の時、高い状態の時が存在します。その状態を正しく監視して対応することで、サンプル操作の際の重大な問題が回避できるようになります。Gilson HPLC システムには、TRILUTION の Method にエラー処理条件が組み込まれています。Start Method,Stop Method では、通常使用する流量ではないことが多いので、エラーLow pressure エラーを設定する際にはご注意ください。

Low pressure エラーは、カラムの標準操作圧より低い圧力レベル、つまり、システムが正常に機能していないことを示すレベルに設定するように、カラムメーカーは推奨しています。エラーハンドリングが機能する圧力は、20 psi かそれ以上にします。

注: いずれの場合も、Low pressure およびHigh pressure に関連するError Method は、フローを停止するか、移動相ポンプへのフローを大幅に落とすようにプログラムされた単純なメソッドでなければなりません。

High pressureエラーは、カラムの標準操作圧より高い圧力レベルに設定することをカラムメーカーは推奨しています。つまり、システムが正常に機能しないことを示し、かつチュービングの破損を避けられるレベルです。

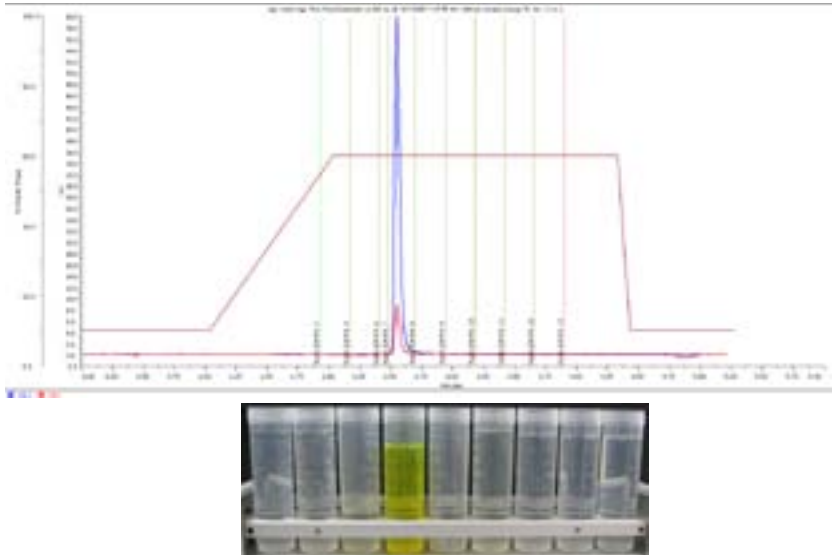
フラクションコレクション／精製

フラクションコレクションのディレイ容量を確認することと、フラクションコレクションを最適化することの2つは、動作条件に合わせて対象のリカバリを最適化するために導入された一般的な方法です。Gilsonの専門知識は、この2つの方法の手引きを提供します。ディレイ容量を視覚的に確認することも含め、多くの簡単な方法があります。これらの方法についての詳細は、Gilson社の Trilution LC Technical Notes Handbook シリーズを 参照してください。

フラクションコレクション・ディレイ容量

目的の化合物が Trilution LCのフラクショントラッキングに従ってフラクションチューブに分取されていることを確認することは、Gilsonの標準設置作業の一部になっています。設置後、ハードウェアのコンポーネント、チューブ、流量、フラクションコレクションのピーク幅、およびディテクターモードの変更を行うと、いずれも、フラクションコレクションのパフォーマンスに影響が出る可能性があります。簡単な視覚的テストを行うことで、適切なフラクションコレクションが行われていることを、迅速かつ効果的に確認することができます。

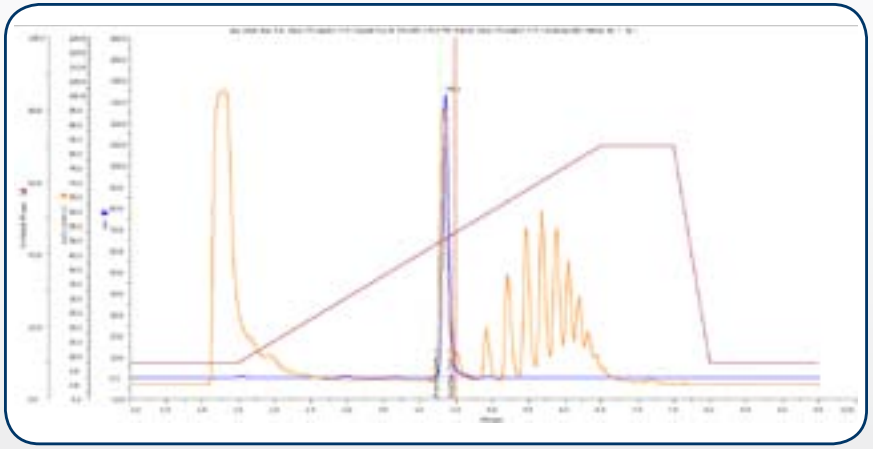
例：アクリジンオレンジ、水和物、98%、Sigma-Aldrich
Gilson 215 Preparative LC Systemを用いて、200 mL/min で行ったフラクションコレクション。



フラクションコレクションの最適化

目的化合物の分離には、色々なモードを使用することができます。下記の条件が組み合わさると、最高の分離や精製が行えます：

- 可能な限り、最少量のカラム溶離液で最大量の化合物を分取する
- 1回のインジェクションにつき最少数のフラクションチューブに分取する
- 希望する化合物を個別のチューブに分取する
- 溶離する化合物を可能な限り多く回収できるように分取する
- 目的物に関する可能な限り多くのデータチャンネルやデータソースを手掛かりに分取する（下図は、UV検出（青トレース）およびELS検出（橙色トレース）による分取の例）



クロマトグラフィー

クロマトグラフィーは、アナリティカル、セミプレパラティブ、プレパラティブというように、行う分析のタイプによって方法が異なってきます。使用するサンプル、カラムのタイプ、溶媒における化合物の溶解度、サンプルマトリクス効果などの条件により、時間が経つにつれて、HPLC の問題がクロマトグラフィーに現れることがあります。日常の分析または精製中に方法を変更することは、実験室での貴重な時間を費やさなくてはならない上に、発生頻度の高いクロマトグラフィーの問題を解決することは、熟練した化学者にとっても難しいことがあります。そこで、クロマトグラフィーで特によく起こる4 つの問題について、問題の原因を特定して調査すべき箇所を以下に述べます。

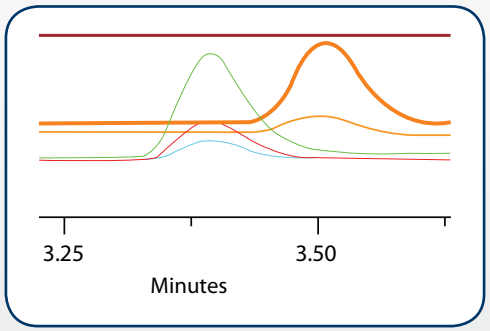
クロマトグラフィーにおいて最もよく見られる問題は次の4つです：

1. ピークのリテンションタイムが変動する
2. ピークが出ない
3. ピークが小さい
4. ピーク形状が悪い

以下の例は、クロマトグラフィーに現れる問題の一般的な解決法を理解するのに役立ちます。各例に、トラブルシューティングを行う上で役立つチェクリストを設けています。一般に、クロマトグラフィーは、トラブルシューティングツールとしてうまく利用することができます。なぜなら、クロマトグラフィーに変化があった時、それは潜在的な問題を示している可能性があるので、目で見て問題を特定することができるからです。解決策を見つけるポイントは、トラブルシューティングをどこからどのように始めるかを捉えることにあります。

1. ピークのリテンションタイムが変動する

同じ移動相グラジェントを用いて、濃度とインジェクションメソッドを変えずに、サンプルを同じカラムに連続してインジェクションする場合、ピークのリテンションタイムは一定になるはずです。変化の度合いによっては許容できる場合もありますが、インジェクション間で、リテンションタイムの大幅な変動が起こるのはなぜでしょうか？こうした変動を減らすあるいはなくすために、その原因は何であるかを次ページの参照表にまとめました。

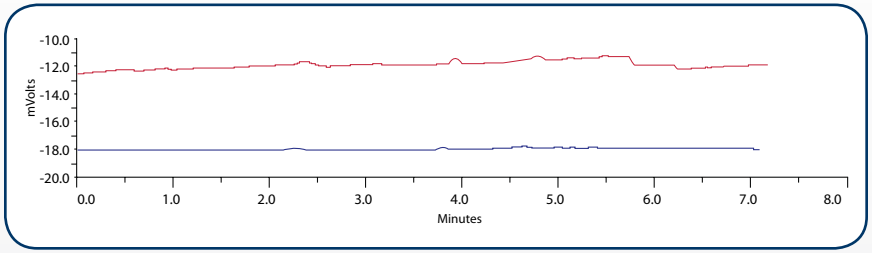


ピークのリテンションタイム変動の原因とその解決策:

原　因	解　決　策
実験室の温度が毎日の同じ時間のクロマトグラフィーに影響を与えていることがあります。 毎日の保持時間の時間変動を確認し、これと、実験室の計画的自動調節された温度変化との相関を調べてください。	温度変動を空調でコントロールすることができますか？ もし温度変動が一定でなく予測不能であれば、カラムヒーターまたはウォータージャケットを使用して、クロマトの溶離を安定化してください。
流量に変動は無く、実行しているメソッドにおいて正確であるということを確認してください。	各ポンプヘッドの100%の流量を測定してください。各ポンプヘッドは、別々にテストします。また、各ポンプヘッドの50%の流量をチェックしてください。流量が正確に出なければ、保守メンテナンスが必要になることがあります。
保持時間のシフトが、①カラムを新しくした、②別のロットのカラムに変えた、③別のメーカーのカラムに変えたことが原因かどうか確かめてください。先の分析と同じロット、同じメーカーのカラムが使われているかどうか確かめてください。	新しいカラムは、移動相との平衡化に時間がかかることがあります。また、標準液のインジェクションが必要になることがあります。カラムの性能は、ロットによって異なります。最初のロットと同じロットの別のカラムで試してください。
プレパレーション（例えば、pH 調整、モディファイヤの添加）を必要とする移動相は、使用前に十分混合する時間が必要になることがあります。 ポンプAおよびBに正しい移動相が使用されていることを確認してください。	新しい移動相を準備して、十分な平衡化のための時間を取ってから標準のインジェクションを3 ～ 5 回行い、保持時間を観察します。 TRILUTION LC ソフトウェアメソッドと溶媒とを関連付けてください。
移動相ポンプの保守メンテナンスを定期的に正しく行うことは、正確な流量と正しいポンプ操作を確保するために不可欠です。	各ポンプとポンプヘッドに完全な保守メンテナンスを行ってください。インレットおよびアウトレットチェックバルブ、ピストンシール（使用されている移動相の溶媒に合ったタイプ）、ベローズ（必要に応じて）、アウトレットフィルターが適切に交換されているか確認してください。また、インレットフィルターの交換の必要がないかチェックしてください。各ポンプヘッドに移動相流量が一定で、ソフトウェアメソッドに使用されるグラジェント流量が一致していることを確認してください。
TRILUTION LC ソフトウェアメソッドは、インジェクションタスクと同期（シンクロナイズ）する必要があります。この同期（シンクロナイズ）により、メソッド操作を効率化でき、保持時間の変動を減らすことができます。	インジェクションメソッドをメソッドの骨組を示す文書と照らし合わせて、データコレクションの前および後（フラクションコレクションを行う場合）にシンクロナイズタスクがあることを確認してください。

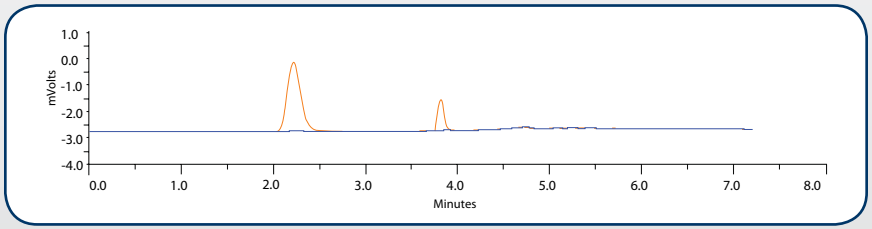
2. ピークが出ない

既知の濃度のサンプルまたは標準液をインジェクションすると、全てのインジェクションで期待される箇所にクロマトのピークが現れるはずです。インジェクションでピークが出ない場合は、潜在的な問題が組み合わさっている可能性があります。ケミカルに関連した問題ともハードウェア装置に関連した問題とも考えられます。次ページの参照表は、お使いのGilson システムに問題が発生する可能性があると認められる部分を特定するのに便利です。



3. ピークが小さい

この例では、2種類の化合物のピークが小さくなっていることを示すために、同じサンプルを2 回続けてインジェクションしたものを重ね合わせています。既知の濃度の同じサンプルのインジェクションを繰り返し行なうと、クロマトのピーク高さは同様になるはずです。ピークサイズの大きなばらつきは、問題がハードウェアのみに関連していると考えられます。実際に問題を突き止めるために、19 ページの参照表は、Gilson システムにおいて発生する問題を特定するのに役立ちます。



「ピークが出ない」原因とその解決策:

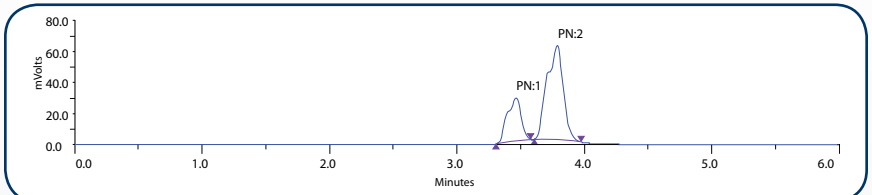
原　因	解　決　策
移動相およびリザーバーを含むシステムのすべての溶媒系に十分補液されているかチェックしてください。 A とB の両ポンプの移動相溶媒をチェックし、各々のポンプに正しい溶媒が使われていることを確認してください。	TRILUTION LC ソフトウェアメソッドに溶媒を関連付けてください。溶媒系を交換すると、HPLCカラムに化合物が残留することがあります。 AとB のポンプの溶媒が間違っていた場合、各ポンプに正しい溶媒を使ってポンプをスタートさせ、ブランクまたは溶媒のインジェクションを連続して行い、HPLC に残留した化合物を溶離させてから、次のサンプル分析に入ります。
Application Run や Sample List に使用されているTRILUTION LC ソフトウェアメソッドおよびサンプルウェルの番号が正しいことを確認してください。	Application Run または Sample List のベッドレイアウト のタブを選択して、ラック上のウェル番号とサンプルの位置を確認してください。Sample List のそのサンプルとメソッド名を照合し、正しいメソッドが実行されていることを確認してください。
プローブの詰まりがないか、また、バイアルからサンプルが吸引されているかを確かめてください。バイアルを取り出し、サンプルがバイアルから減少していることを確認してください。	セプタムピアッシングに専用の溝付きのプローブを使用していない場合、セプタムバイアル内が陰圧となる可能性があり、インジェクションの吸引量に変動が生じる原因になります。 バイアルに、ブランクすなわち溶媒を満たして、インジェクションを行ってください。インジェクション中は、HPLC システムを観察し、サンプルが吸引され、システムに正しく注入されていることを確認してください。
サンプルがシステムに注入されたことを確認してください。 Gilsonシステムでのインジェクションには、2種類あります：インジェクションポートに直接注入するタイプとインジェクションポートのないZ-インジェクション（サンプルがプローブをから直接ループに吸引される） のタイプです。	バイアルにブランク溶媒を満たして、インジェクションを行ってください。インジェクション中は、HPLC システムを観察し、サンプルが吸引され、システムに正しく注入されていることを確認してください。 インジェクションポートに直接注入するタイプでは、インジェクションポートの上方で、吸引したサンプルに気泡が発生していないことを確認してください。インジェクションポートシールの磨耗またはインジェクションバルブにつながる廃液用チュービングの狭窄により、サンプルのインジェクション不良が起こることがあります。廃液用チュービングを取り外して、もう一度インジェクションを行ってください。あるいは、インジェクションポートシールについて保守メンテナンスの確認を行ってください。 インジェクションポートのないZ-インジェクションを用いる場合は、サンプルがバルブスイッチより前に、サンプルループに完全に入っているいることを確認してください。サンプルインジェクションの為に吸引される量が不適切であると、サンプルループへ充填されなかったり、行き過ぎてしまったりして、クロマトのレスポンスが低くなります。お使いのHPLC に合わせて、吸引量を計算してください。または、弊社にご連絡ください。
ディテクターランプの寿命が近い	ディテクターのランプが点灯していること、ディテクターのエラーランプが点灯していないこと、最後に交換したランプについてディテクターの保守メンテナンスを確認してください。波長がTRILUTION LC ソフトウェアメソッドで使用されている波長であるかどうか確認してください。

「ピークが小さい」原因とその解決策:

原　因	解　決　策
Application Run またはSample List に使用されているTRILUTION LC ソフトウェアメソッドおよびサンプルウェル番号が正しいことを確認してください。	Application RunまたはSample Listのベッドレイアウトのタブを選択し、ラックのサンプルウェル番号を確認してください。Sample List のサンプル名とメソッド名を照合し、正しいメソッドが実行されていることを確認してください。
サンプルがバイアルから吸引されたことを確認してください。バイアルを取り出し、バイアルのサンプルが吸引されたことを確認してください。 粒子を含むサンプルは濾過の必要があります。濾過せずインジェクションを行なうと問題が生じることがあります。 インジェクションに必要な容量を吸引するために、バイアルに十分な量のサンプルがあったことを確認してください。	セプタムのピアッシングに専用の溝付きのプローブを使用していない場合、セプタムバイアル内が陰圧となる可能性があり、インジェクションの吸引量に変動が生じる原因になります。 バイアルのサンプルが濁っていないこと、あるいは、インジェクション前に濾過を済ませていることを確認してください。 バイアルにブランク溶媒を満たして、インジェクションを行ってください。インジェクション中、HPLC システムを観察し、サンプルが吸引され、システムに正しく注入されていることを確認してください。
サンプルがシステムに注入されたことを確認してください。Gilsonのシステムでのインジェクションには、次の2種類のタイプがあります; インジェクションポートに直接注入するタイプとインジェクションポートのないZ- インジェクションのタイプ(サンプルがプローブを介してループに直接吸引される)。	バイアルにブランク溶媒を満たして、インジェクションを行ってください。インジェクション中、HPLC システムを観察し、サンプルが吸引され、システムに正しく注入されていることを確認してください。 インジェクションポートに直接注入するタイプでは、インジェクションポートの上部で、吸引したサンプルに気泡が発生していないことを確認してください。インジェクションポートシールの磨耗またはインジェクションバルブにつながる廃液用チュービングの狭窄により、サンプルのインジェクション不良が起こることがあります。また、サイフォン効果による逆流を防ぐために、廃液ラインが廃液用ポートより少し上にあることを確認してください。廃液用チュービングを取り外して、もう一度インジェクションを行ってください。 また、インジェクションポートシールについて保守メンテナンスを行ってください。インジェクションポートのないZ- インジェクションを用いる場合は、サンプルが、バルブ切り替わりより前に、サンプルループに適切な流量で完全に入っていることを確認してください。サンプルインジェクションの為に吸引される量が不適切であると、サンプルループへ充填されなかったり、行き過ぎてしまったりして、クロマトのレスポンスが低くなります。お使いのHPLCに合わせて、吸引量を計算してください。または、弊社にご連絡ください。
ディテクターランプの寿命が近い	ディテクターのランプが点灯していること、ディテクターのエラーランプが点灯していないこと、最後に交換したランプについてディテクターの保守メンテナンスを確認してください。波長がTRILUTION LC ソフトウェアメソッドで使用されている波長であるかどうか確認してください。

4.　ピーク形状が悪い

一般に、良好なピーク形状が得られないことの理由には、サンプルの溶解度、カラムのオーバーロード、カラムの寿命といった化学的な問題が関連しています。お使いのHPLC システムで連続してインジェクションを行なう際、ピーク形状を改善するための簡単なポイントを次にご紹介します。



ピーク形状を改善するためのポイント

サンプル溶媒、リンス溶媒、移動相溶媒がマッチしていなければなりません。システム溶媒に対するサンプルの溶解度は、キャリーオーバーを最小限に留めて、効果的な液体操作を確実に行なうのに重要です。

ピークのフロンティングは、間違ったサンプル溶媒を使用したことが原因で起こることがあります。移動相、サンプル溶媒、リザーバー溶媒が、それらの化学特性が類似していることを確かめてください。
サンプルのオーバーロードによっても、フロンティングが見られることがあります。ご使用のHPLC カラムについてのロード仕様を調べて、オーバーロードがピーク形状不良の原因でないことを確認してください。

ピークのテーリングはよく見られるもので、カラムとサンプルの相互作用の問題を示しています。不純物ピークが、テーリングの原因かもしれません。グラジェントの変更や移動相の変更により、それらのピークが分離する可能性があります。カラムを変更するとテーリングが解消することもあります。テーリングは、移動相にトリエチルアミン(TEA) などの添加剤を使うことや、pH を変えることで抑えられることもあります。

カラムの寿命は、インジェクションの回数、カラムのロット、カラムパッキングのタイプ、日常のメンテナンス、クリーニングなどによって異なってきます。カラムのクリーニングは、カラム寿命を延ばすのに効果的です。カラムメーカーは、推奨するカラムクリーニング方法を用意していることがあります。お使いのGilson HPLC システムにカラムクリーニング機能を組み込むと、簡単で効果的に、分析中のクリーニングプロセスを自動化することができます。

アナリティカルの流量条件下では、ディテクターのアウトレット・チュービングにバックプレッシャ・レギュレータをご使用ください。移動相溶媒からののガスはピーク形状の不良を招く恐れがあります。

システムの日常使用

お使いのGilson HPLC システムを全体的に把握し、操作のためのプログラムの方法を理解することは、実験室の規模に関わらず効率のよい使用につながります。5つのポイントを以下にまとめました。これらのポイントは、システムを日常、最適に使用するために、必ずご理解頂く必要があります。

1. サンプルの管理 — 定義済みのSample List を利用する
2. Sample List の作成／変更
3. Sample List のボタンを使って、実行中のメソッドをオーバーライドする
4. 手動制御でシステムを操作する
5. TRILUTION LC のBasic Navigation — メソッドとクロマトグラムのデータを検索する

メソッドの作成と最適化

Gilson システムを最適化したい場合、TRILUTION LC を調整する方法を知る必要があります。現在お使いのメソッドについて理解することで、そこから別のメソッドの作成が容易になり、現在および今後の分析のためにシステムを最適化できる好機となります。お使いのアプリケーションでやりたいことに時間をかけるのであれば、メソッドのタスクと機能の理解が必要です。

変数の効率的な使い方、フレキシブルな移動相グラジェントおよびフレキシブルなフラクションコレクションの作成の仕方、フラクションコレクションを最適化する方法を理解することはいずれも、既存および新規のアプリケーションについて、HPLC システムをより効率的に使用する助けとなります。弊社テクニカルサポートスタッフまでお問い合わせください。

コンピュータ

HPLC の問題原因を解消するには、Gilson のTRILUTION LC ソフトウェアを動作させているコンピュータに目を向けます。システム操作に関連した問題がある場合、まずは、仕様と推奨条件とが一致していることを確認し、コンピュータ等における権限認可の設定を確認するといった日常のチェックを行なうことです。

仕様

Installation Guide には、TRILUTION LC ソフトウェアの各バージョンについて、コンピュータの仕様が記載されています。また、TRILUTION LCの最適性能を確保するため、Gilson のウェブサイトにも仕様を掲載しています。

アクセス

TRILUTION LC のインストール方法は、Installation Guide で説明しています。インストールには、アドミニストレーターコンピュータにアクセスする必要があります。ソフトウェアのアクセスをグループ定義に基づいた特定機能に制限するために、個別のユーザーアクセスレベルをTRILUTION LC に設定することができます。

自動更新

TRILUTION LC のソフトウェアを動作させるコンピュータでは、自動更新機能を停止しておくことをお勧めします。オペレーティングシステムの自動更新機能により、クロマトのデータ収集やGilson システムの運転を中断することは望ましくありません。

再起動

コンピュータのRAM を修復し、通常の最適性能を発揮できるよう、TRILUTION LC ソフトウェアを動作させているコンピュータを定期的に（24 時間ごとに）再起動することを推奨しています。

メンテナンス

Results の画面にあるArchive の機能を使ってメンテナンスを行なうことができます。Archiveの機能の使い方は、TRILUTION LC のHelp メニューおよびQuick Start Tutorial のCD-ROM で説明しています。Import Export のドキュメントを参照してください。

実験室と設備

HPLC の問題の中には、実験室や設備に関連がある場合があります。本ガイドは、それらの問題を解決するためのものではありませんが、少なくとも、発生している問題の原因がGilson のHPLC が使用されている実験室や設備の条件によるものである可能性もあるということを理解しておく方がよいでしょう。

このような問題は、以下のことを確認することで、その原因を突き止めることができます。

電力
ハードウェア機器との通信が時々途切れると、電源サージが発生することがあります。

温度／湿度
大きく変動すると、クロマトグラフィに問題が生じることがあります。

廃液の集液
HPLCシステムからの廃液ラインが、適切な集液容器にまっすぐ流れていることを確認してください。廃液ラインに水平な箇所があると、廃液がスムーズに集液されずに滞る原因になります。

システムカート

廃液の集液およびHPLCシステムへのアクセスを良好に行なうためには、十分なスペースを確保する必要があります。

重量に合わせてHPLCシステム機器を収容できるだけのシステムカートを、水平に置くようにしてください。

キャリーオーバーを理解する

溶媒の選択がキャリーオーバーに与える影響について

サンプルのタイプ、サンプルのマトリクス、サンプルの濃度は、いずれもキャリーオーバーの原因になります。使用したい濃度でサンプルとマトリクスが溶解しやすいサンプル溶媒を選んでください。溶解しやすいサンプルであれば、インジェクションバルブ、インジェクションプローブおよびチュービングから簡単に洗い落とされます。

使用しているサンプル濃度ではわずかしか溶解しない場合、キャリオーバーを低減するには、プローブ、トランスファーチューブ、インジェクションポート、インジェクションバルブという広範囲のリンスが必要になります。

リンスおよびインジェクションの手順を最適化することにより、キャリーオーバーを低減する方法

サンプルマトリクスは変えられませんが、リンス溶媒は溶解度に合わせて最適化することができます。リンス溶媒は、システムの移動相が耐性をもつものであることが必須で、クロマトの分離に悪影響や衝撃があってはなりません。質量分析の場合、リンス溶媒はイオン化の妨げになることはありません。お使いのシステムのインジェクションとリンスの方法を最適化することは、システムのキャリーオーバーを低減することに役立ちます。以下は、その手順です。

インジェクションポートのリンスが終わると、プローブをリンスステーション（フローイング式リンスステーションが最適）に移動させ、シリンジまたはトランスファーチューブの容量の75%を、流速10mL/min.で、吸引吐出を3回行うことにより、プローブをリンスします。

他の標準的な洗浄方法に比べ、非常に多くのキャリーオーバーを低減できる方法として、プローブの双方向フロースルーリンスがあります。Gilson's Trilution LCソフトウェアで使用できる標準の洗浄方法は、リザーバーからのプローブリンスです。これは一方向のみのフローを用いるものです。フロースルー・リンス・ステーションや外部リンスポンプを使って、双方向式洗浄を行うためのハードウェアおよびソフトウェアのオプションもご用意しています。

また、別の方法として、複数の溶媒を用いた洗浄でも、キャリーオーバーを低減できます。選択される溶媒は、混合可能で、かつ塩沈が生じる反応は起こらない性質でなければなりません。2種類の溶媒でリンスするには、402デュアル・シリンジ・ポンプが必要になります。または、低圧VALVEMATE IIを使用して、リンスのための溶媒選択オプションを増やすこともできます。図1Aおよび1Bを参照してください。その他、GX-281またはGX-271リキッドハンドラーでソルベントシステムを使用すると、それぞれの溶媒に異なるポートを選択することが容易になります。

高濃度サンプルをインジェクションすると、インジェクションポートにコンタミネーションが生じることがあり、その場合、ポートを洗浄するため、広範囲のリンスが必要になります。コンタミが生じたインジェクションポートを洗浄するには、リンスステーションまでプローブを移動し、標準のリンスを少なくとも10回繰り返す必要があります。そして、プローブをインジェクションポートまで移動し、インジェクションポートのリンスを10回繰り返し、リンスが1回終わるたびに、プローブを上げたり下げたりします。また、完全にコンタミを除去するため、別の溶媒でインジェクションポートを、手で洗浄しなければならないこともあります。

さらにキャリーオーバーを低減するため、インジェクション手順に、次のようなステップを追加することもできます：

サンプルをバイアルから吸引した後、溶媒を入れたチューブまたはフローイングリンス・ステーションにプローブを浸して、プローブの外側のサンプルを除去してください。プローブの外側に汚れがなければ、インジェクションポートのシールを汚染することもありません。このステップにかかる時間はたったの2,3秒ですが、アプリケーションによっては、キャリーオーバーを大幅に低減することができます。

図 1A
追加溶媒洗浄のための二重溶媒装置

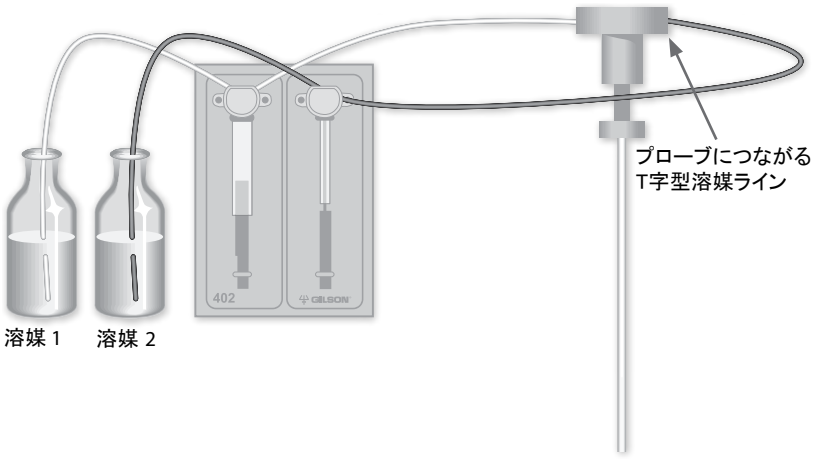
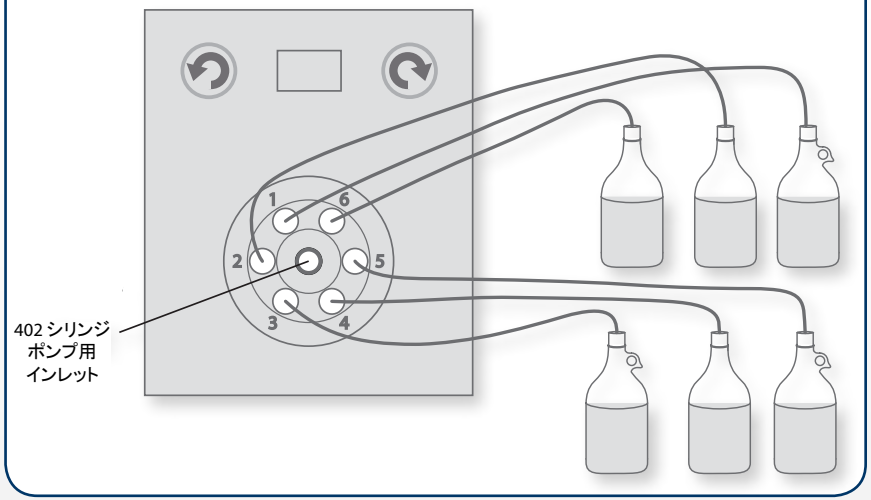


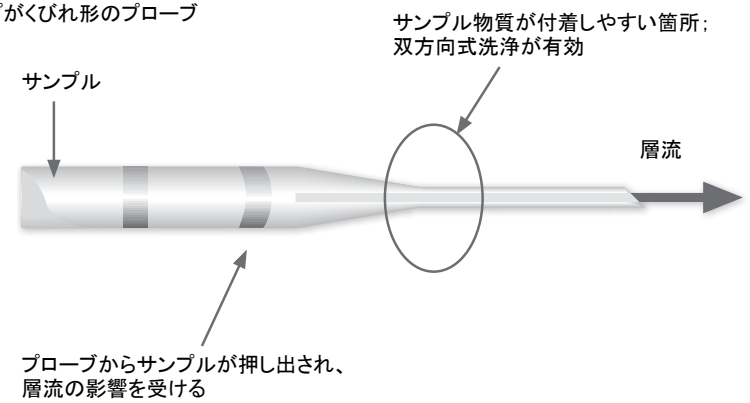
図 1B
追加溶媒洗浄のための VALVEMATE II

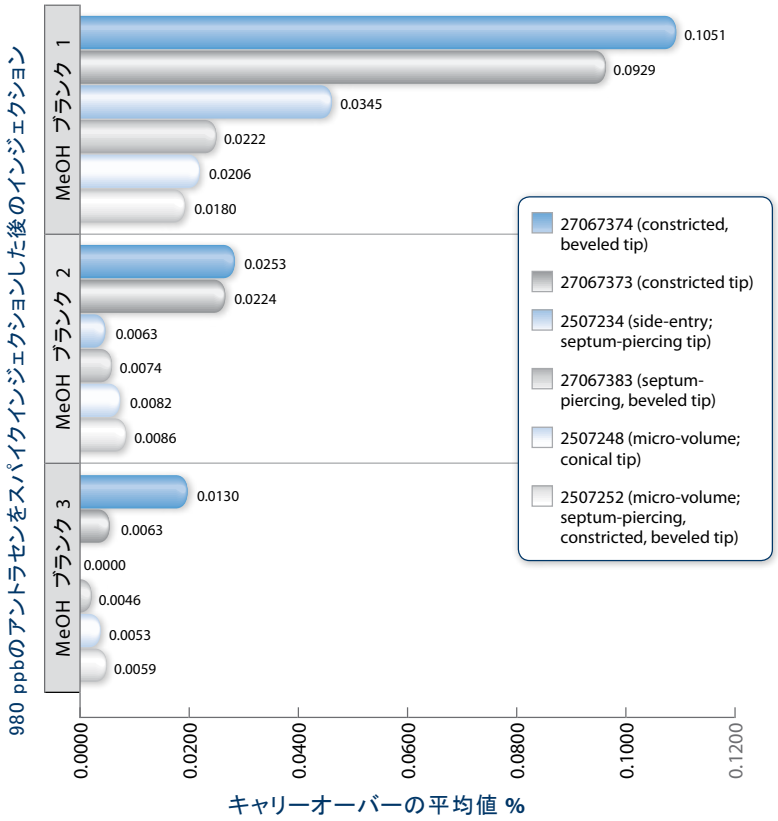


プローブの選択がキャリーオーバーに与える影響について

プローブの内径と外径は、サンプルの吐出後プローブの内面および外面に付着するサンプルの量に影響を与えます。内径が一定のプローブを使用することで、プローブ内壁に付着するサンプルの量を少なくすることができます。プローブは、内径および外径ができるだけ小さく、使用するサンプルまたはサンプルマトリクスと親和性のない素材のものを選びます。プローブのチップにくびれがあると、一定の条件下で、キャリーオーバーが増えることがあります。(下図2 参照)

図 2
チップがくびれ形のプローブ





テーブル 1
様々なタイプのプローブを用いた場合のキャリーオーバーの研究結果

双方向式洗浄方法を用いると、チップにくびれがあるプローブを使用することにより生じたキャリーオーバーが低減できます。双方向式洗浄では、ベッド上にある溶媒の入った容器から吸引および吐出することが必要で、フローリンス・ステーションを使用するかあるいは外部リンスポンプを使用する方法があります。いずれの方法でも、Gilson's Trilution LCリキッドハンドリング作業をシンクロナイズタスクと組み合わせて用いることができます。リンスバイアルを使ったインジェクション手順の例を次に説明します。

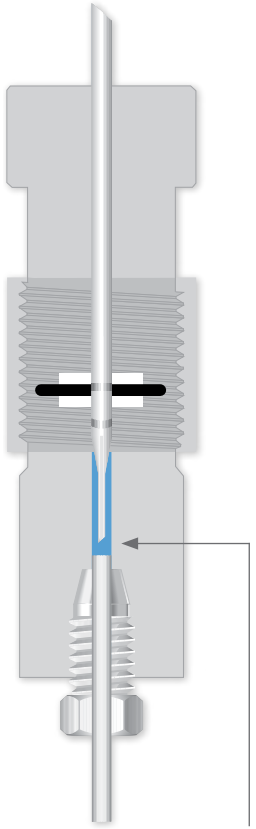
1. リンスバイアルの位置までアームを移動させます。
2. リンスバイアルの適切なz-heightにアームを移動させます。タスクの終了に同期させます。
3. リンスバイアル溶媒500 µLを6 mL/min.で吸引します。タスクの終了に同期させます。
4. アームをリンスバイアルの適切なz-heightまで移動させます。タスクの終了に同期させます。
5. リンスバイアル溶媒500 µLを6 mL/min.で吸引します。タスクの終了に同期させます。

プローブの選択およびプローブの深さを最適にすることで、キャリーオーバーを低減することができます。使用されているインジェクションポートに対しデッドボリュームが最も少ないプローブを選択します。インジェクションポートはプローブの直径の最大周囲をシールするように設計されています。したがって、チップにくびれのあるプローブは、外径が一定のプローブに比べてデッドボリュームが多くなります。(図3参照)

インジェクションポートに不適切な高さでプローブを差し込むと、キャリーオーバーを増やすことにもなります。プローブの正しい高さは、インジェクションポートの底から≤1 mm上です。インジェクションポートのシールの下から底までの全空間 — たとえば、Gilson 819インジェクション・モジュールの空間全体は、約3 mmです。シールのすぐ下にプローブを差し込んだだけでは(インジェクションポートの底からは約3 mm上)、キャリーオーバー発生の可能性が高くなります。シール式バイアルのシールが、プローブが取り出される時に、プローブを拭き取ります。これにより、プローブ外側に付着するサンプルにより生じるキャリーオーバーは減ります。インジェクションポートに移る前に、溶媒にプローブを浸漬することでも、プローブ外側に付着しているかもしれないサンプルを取り除くことに役立ちます。(図4参照)
アプリケーションに最適なプローブを選ぶ時間がある場合、また、インジェクションパラメータが最適化されている場合、プローブが原因で生じるキャリーオーバーは、かなりのレベルまで低減することができます。

図 3

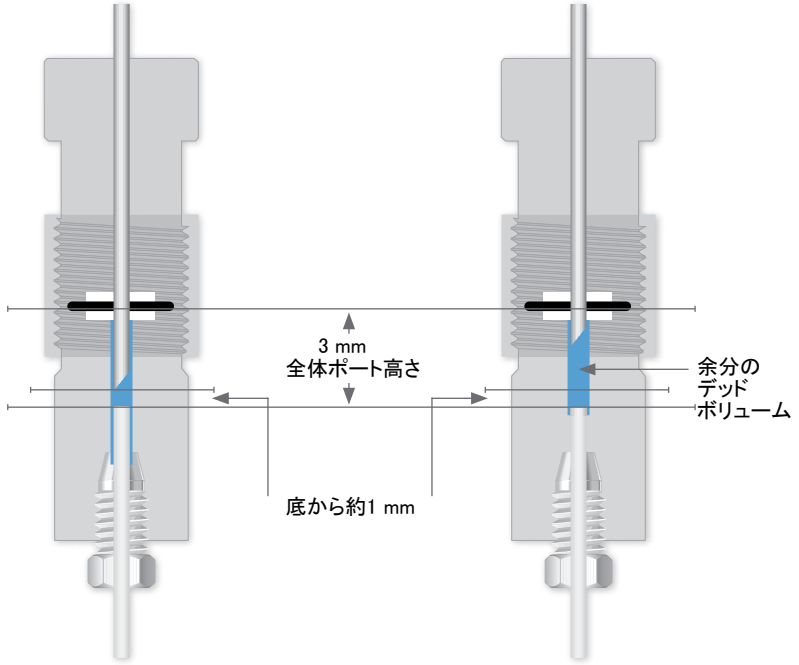
チップがくびれ形のプローブをインジェクションポートに差し込んだ場合



チップにくびれのあるプローブのチップ周囲のデッドボリュームが多い

図 4

インジェクションポートのプローブの高さ

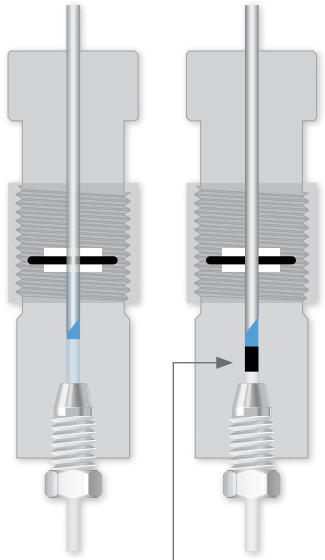


配管がキャリーオーバーに与える影響について

サンプルは、トランスファーチューブにも接触します。このことがキャリーオーバーの原因になることがあります。注入されるサンプル容量に最適なトランスファーチューブを選択しなければなりません。(31ページの"プローブ &トランスファーチューブの選択"を参照してください。)サンプルがトランスファーチューブ内を通過するにつれ、コンタミネーション発生の可能性が増します。サンプルは、トランスファーチューブからシリンジやソルベントシステムへと完全に移ることはありません。サンプルがシリンジに入ると、完全に洗い流すことは非常に困難です。また、シリンジに漏れがあると、キャリーオーバーを増やすことがあるので交換が必要です。

インジェクションポートおよびインジェクションバルブへの配管接続は、キャリーオーバーに重大な影響を持ちます。フェラルがチュービングの正しい深さに取り付けられていないと、インジェクションバルブとインジェクションポートの接続部に、キャリーオーバーに重大な影響を与える可能性のあるデッドスペースと隙間ができます。フェラルがインジェクションループからチュービングに正しく取り付けられていないと、キャリーオーバーが10倍増になることがあります。キャリブレーテッドのインジェクションポート用チュービング(Gilsonのシステムに必要な場合)は、キャリーオーバーをできるだけ少なく保つために、必ず正しく取り付けられなければなりません。(図5および 6参照)

図 5
インジェクションポート用キャリブレーテッド・チュービング



フィッテングが正しく取り付けられていないことが原因で生じるキャリーオーバーを低減するには、まず、ナットとフェラルを取り外さなくてはなりません。ステンレス製のチュービングを使用している場合、チュービングの約19 mmを切断することが必要になります。PEEK製チュービングを使用している場合は、チュービングの約6 mmを切断してください。新しいフェラルを取り付ける時に、フェラルの端から出ているチュービングの約4 mmを残します。チュービングを、ナットにねじ込みながら、バルブポートの背部に差し込んでください。このとき、すべてのフェラルが適切な深さにはめ込まれるように注意しなければなりません。図7参照。

廃液ラインの位置がインジェクションバルブから外れることも、キャリーオーバーに影響を与えます。廃液用チュービングのアウトレットがインジェクションバルブの廃液ポートより低い位置にあることを確認してください。チュービングを不必要に折曲げないでください。廃液チュービングは、連続的な下向きの傾斜が付いていることを確認してください。

インジェクションバルブのメンテナンスも、キャリーオーバーに影響を与えます。古くなり摩耗したローターシールは、液漏れがなくても、キャリーオーバーのリスクが増え、%RSDが高くなります。摩耗あるいは傷のあるローターシールでは、キャリーオーバーが10倍増になることがあります。ローターシールの素材は、お使いのサンプルに対して、親和性がまったくないか、もしくは最低のものを選んでください(PEEK,Tefzelおよび Vespel)。選択するために実験が必要になることがあります。

キャリーオーバーの原因は、1つの問題だけであるとは限りません。見とめられたキャリーオーバーは、サンプル、プローブ、インジェクションポート、配管接続部、またはリンス溶媒の選択が原因であるかもしれません。これらの条件を負に変えることはあまり重要ではないように思われますが、そうすることで、キャリーオーバーが容認できないレベルにまで増えることがあります。上記の条件全てに細心の注意を図ることが、キャリーオーバー低減に役立ちます。キャリーオーバーが2パーセント以上であれば、お使いのハードウェアやインジェクション手順に何か重大な問題があります。

良好なインジェクションおよび分析を確実にするために、キャリーオーバーを除去する必要はありません。ただし、キャリーオーバーは、アッセイに干渉しないポイント、あるいは、最低検出限界値を下回らないポイントにまで低減する必要があります。

図 6
フィッティングが正しく取り付けられていない状態

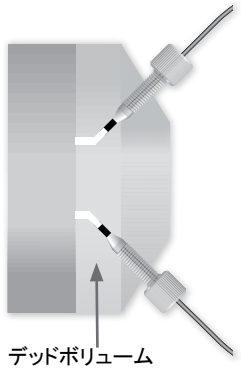
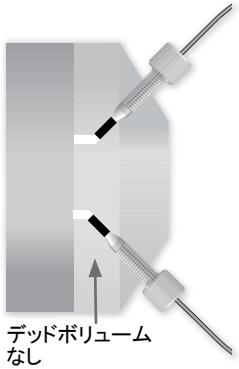


図 7
フィッティングが正しく取り付けられている状態



キャリーオーバーは、0.1% から 0.01% の範囲であれば妥当で、これは一定の日常の操作で達成できるはずです。さらに注意を加えることで、キャリーオーバーを0.005%より減らすことも可能です。以下のような注意を加えることで、インジェクションあたりの時間がわずかに増えますが、この時間の増分は、クロマトの分離時間に2分以上かかる場合は、問題にはなりません。

このセクションでは、プローブ、チュービング、インジェクションポート、インジェクター・ローター・シールに対するサンプルの親和性が原因で起こるキャリーオーバーについては触れません。この現象は、ハードウェアのコンポーネントのうちいくつかの素材を変えることが必要になります。お使いのサンプルにとって最善に働くことであればどんなことでも、キャリーオーバーを減らすための解決策となります。

プローブ&トランスファーチューブの選択

トランスファーチューブの選択
適切な容量のトランスファーチューブの選択は、Gilson 402 シリンジポンプを使用する際の、シリンジのサイズが基本となります。サンプルがシリンジに入らないようにするために、少なくともシリンジと同じ内容量のトランスファーチューブを選んでください。

ソルベントシステムを使用する際、通常吸引吐出される最大容量に最も近い容量のトランスファーチューブを選んでください。

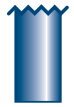
Gilsonのプローブ製品識別番号

Gilsonのプローブには、その縁に製品番号がレーザー刻印されていますので、ご注文やサポートの際には、すぐに簡単に識別リファレンス番号を確認できます。

プローブ

Gilsonは、リキッドハンドリングのあらゆる要件に合ったソリューションとなるアプリケーションのニーズのすべてに合った、多くのタイプのプローブ、プローブのチップ、およびコーティングを提供しています。詳しくは、図8 を参照してください。

図 8
プローブのタイプ

チップの形状	説明	特徴
Flat 	チップは、プローブの長さに垂直にカットされている。	・液体の最後の1滴を吸引する ・セプタムのピアッシングはできない ・インジェクションなし
Constricted	プローブチップの外径が、シャフトのレストより小さい。 くびれ形のチッププローブは、どんなアプリケーションにも最適である独特のチップ設計。	・インジェクションポートに対応
Beveled	チップは、角度をつけてカットされ、面取りされた形である。	・チップが鋭角なので、セプタムのピアッシングが可能 ・インジェクションポートに対応可能
Spring Loaded	低容量、タッチオフ分注用	・MALDI 法によるスポットアプリケーションに最適 ・バネ付きプローブにより、スポット表面にダメージを与える可能性がない
Vented	次の2種類の様式があります: 1. チップ上部のプローブシャフトに細い溝が切られている(図参照)。 2. 2本のプローブが同心円状に組み立てられており、液体には内部チャンネル、気体には外部チャンネルという2つの別々のチャンネルが作成される。 ベント付きプローブのチップの設計は異なることがあります。	・チップが尖っているので、セプタムのピアッシングが可能 ・ベントにより、密閉容器の内部および外部の圧力を、液体が吸引・吐出されると、平衡化できる
Side-entry	液体のフローパスが、チップではなく、プローブ側面に開いている。	・厚みのあるセプタム向き ・セプタムのコアリング防止 ・インジェクション・ポート対応 ・制限容量では推奨できない
Deflected	ベベル形のチップ設計を基に、プローブチップが湾曲し、尖っている形。	・チップが鋭角なので、セプタムのピアッシングが可能。 ・コアリング防止のため、チップがピアッシングと同じようにセプタムを押し出す。
Conical	PEEK インジェクション用に設計されたもの。	・薄いセプタムのピアッシングは可能 ・液体の最後の1滴を吸引できる

キャリーオーバーのトラブルシューティング

1. キャリーオーバーが 0.02 %を超える場合

- **サンプルがリンス溶媒に十分に溶けにくい。**
  そのサンプルが溶解しやすい溶媒に取り換えるか、複数溶媒洗浄を試してください（図1参照）。
- **サンプルが、プローブチュービングインジェクションポートまたはローターシールとの親和性がある。**
  可能ならば、TefzelまたはPEEKのローターシールに切替えてください。ただし、システムがこのサンプルで既に稼動中であれば、ローターのシールタイプを変更しないでください。
- **インジェクターのローターシールに傷や損傷がある。**
  疑わしい場合は、ローターシールを交換してください。
- **フェラルが、インジェクションバルブに正しく取り付けられていない。**
  サンプルループからインジェクションバルブ内、およびインジェクションバルブからカラムへのチューブの接続状態が完全でなければなりません。そうでなければ、すべてのフィッティングを取り外して、交換してください。チュービングをポート背部に押しつけてください。チュービングを位置決めしてから、ポートの背面にしっかりと押しあてながら、フェラルとナットをインジェクション・ポートにスライドして入れてください。（図5～7参照）
- **インジェクションポートに入るプローブの高さが適切にセットされていない。**
  インジェクションポートに入るプローブの高さがインジェクションポートの底より約1.0 mm (±0.5 mm)上でになければなりません。インジェクションポートのプローブの高さをチェックするには、装置の電源をOFFにしてから、インジェクションポートの底までプローブを手で下げてください。Zアームに関してプローブホルダーの位置に印をつけてください。装置の電源をONにして、 TRILUTION LCソフトウェアを使って、インジェクションポートまでプローブを移動させます。プローブホルダーの位置が、マークより約1mm上にありますか？もし、なければ、クランプの高さを調節するか、あるいは、Gilsonのリキッドハンドラー、GX-271 およびGX-281用のオフセットソフトウェアユーティリティを使用してください。(図9参照)

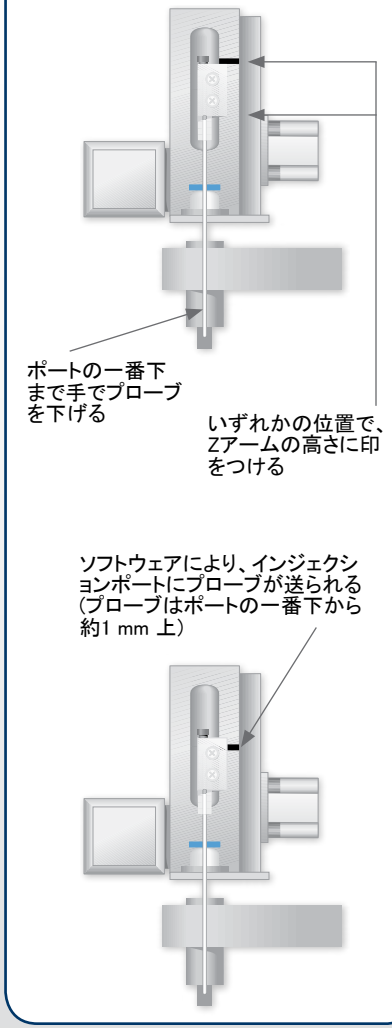
2. キャリーオーバーが 1 %を超える場合

- **サンプルがリンス溶媒に溶けていない可能性がある。リンス溶媒に溶解するサンプルであること。**
- **サンプルが、プローブ、トランスファーチューブ、インジェクションポート、ローターシールに親和性がある可能性がある。親和性はあってはならない。**
- **プローブの内径が、吸引されるサンプル容量に対して大きすぎる可能性がある。**
  内径が小さいプローブを使用してください。
- **プローブのチップにくびれがあるタイプである（すなわち、サンプルのリンスが適切に行われない）**
  適切なプローブと交換してみてください。（図8参照）
- **ローターシールに傷がある。**
  疑われる場合は、ローターシールを交換してください。ただし、システムがこのサンプルで既に稼動中であれば、ローターのシールタイプを変更しないでください。
- **インジェクションポートに入るプローブの高さがインジェクションポートの底から約1.0 mm (±0.5 mm)上であること。**
  プローブを前述の高さに調節してください。
- **サンプルループからインジェクションバルブ内、およびインジェクションバルブからカラムへのチューブの接続状態が完全でなければなりません。**
  完全でなければ、上記のとおり、接続し直してください。
- **インジェクションリンス手順に調整が必要であり、最適化されていない。**
  インジェクションポートに移動する前に、プローブを溶媒に浸けておいてください。プローブリンス容量を増やし、吐出速度を上げてください。402 シリンジポンプまたは VALVEMATE II 溶媒セレクターを使って二次溶媒でリンスをしてみます。図1B参照。

3. キャリーオーバーが 5 %を超える場合

- **プローブが目詰まりしている**
  プローブの詰まりを取り、新品交換してください。
- **キャリブレーテッド・チュービングやインジェクションバルブが詰まっている、あるいは、フィッティングが正しく取り付けられていない。**
  キャリブレーテッドのチュービングやインジェクションバルブは詰まりを取るか、交換してください。フィッティングの正しい取り付け方は取扱説明書を参照してください。
- **インジェクションポートのシールに傷があるかまたは正しく調整されていない。**
  インジェクションポートのシールを取り外してから、取り付け直すかまたは交換してください。
- **インジェクションポートのプローブ高さが高すぎる。**
  インジェクションポートのプローブ高さは、インジェクションポートの底から 1.0 mm (±0.5 mm) 上になければなりません。上記のとおり、プローブの高さを調節してください。
- **サンプルがリンス溶媒に溶けにくい。（溶けなければならない）**
- **シリンジポンプバルブのスイッチが適切に作動しない。**
  弊社にお問い合わせ下さい。
- **シリンジプローブの接続が緩んでいるか、シリンジに液漏れがある。**
  すべての配管接続部をチェックして、締め直してください（必要に応じて）。シリンジに液漏れがあれば、交換してください。
- **システム液が汚れている。**
  すべての溶媒を交換して、システムをリンスしてください。
- **インジェクションリンス手順に精製が必要であり、最適化されていない。**
  インジェクションポートに移動する前に、プローブを溶媒に浸けておいてください。プローブリンス容量増やし、吐出速度を上げてください。402 シリンジポンプまたは VALVEMATE II 溶媒セレクターを使って二次溶媒でリンスを試してください。

図 9
インジェクションポートのプローブの高さ



4. キャリーオーバーを 0.01%未満にしたい場合。これを正しく測定するには?

- インジェクションポートへの移動の前後に、フローイングリンスにプローブを浸漬しておく必要があるかもしれません。
- 二重溶媒洗浄が必要かもしれません。402　デュアルシリンジポンプまたは溶媒セレクター VALVEMATE IIを設置してください。
- サンプルはリンス溶媒に溶けなくてはなりません。
- バルブに入るどのフィッティングも適切な深さに取り付けられていなければなりません。

ハードウェア機器のトラブルシューティング

トラブルシューティングとは、発生した問題を特定、分離した一定のハードウェア機器について行なわれる一連の標準チェック作業のことをいいます。問題の発生は想定外の性能に関連することが多くあります。ここでは、Gilson　HPLC　システムの各主要機器で行なうことができる一定のトラブルシューティングについて詳しく述べます。ハードウェアに問題があるとわかったら、下表を参照してください。

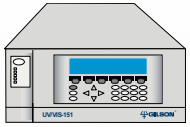
ポンプ

症状	原因と対策
ポンプのインレットチューブングに気泡	・ フィッティングのネジ山を壊さないように注意して、インレットチューブングを接続し直してください。 ・ ポンプヘッドが乾いている可能性があります；最大15分間プライムしてください。 ・ 溶媒ボトルのインレットフィルタに詰まりがないかチェックしてください。 ・ プライム用ティーおよびシリンジを使用している場合、インレットチューブングのプライミングティーやフランジフィッティングを交換しなければならないことがあります。 ・ チェックバルブを交換しなければならない可能性があります。
ポンプシステムから送液されない	・ 電源およびヒューズが飛んでいないかチェックしてください。 ・ ポンプヘッドを再度プライムしてください；最大15 分必要です。 ・ 移動相ボトルに溶媒が入っていることをチェックしてください。 ・ 各ポンプヘッドの流量を別々にチェックしてください。 ・ チェックバルブを交換しなければならない可能性があります。
ソフトウェアメソッドのランが終了してもポンプの送液が停止しない	・ 実行中のソフトウェアメソッドが、最後のタスクとして、流量0 ml/min. になっていることをチェックしてください。 ・ 実行中のエラー処理ソフトウェアメソッドが、最後のタスクとして、流量0 ml/min. になっていることをチェックしてください。 ・ ポンプヘッドのピストンシールは交換の必要がないことを確認してください。 ・ ポンプとTRILUTION との通信がまだ続いていることを確認してください。

バルブ

症状	原因と対策
レオダインバルブの液漏れ	・ バルブローターのシールを交換してください。(バルブに添付された交換部品説明書に従ってください) ・ バルブにステーターを正しく取付けてください。バルブ本体とステーターのギャップは全面一定でなければなりません。(バルブに付属の交換パーツ取扱説明書に従う)
インジェクションポートの最上部からレオダインバルブの液漏れがある	・ インジェクションポートシールをわずかに緩めてから、液漏れが止まるまで、シールを締め直してください。あるいは、シールを交換してください。 ・ キャリブレーティッドチューブングを交換してください。
レオダインバルブに異音がする(回転時のひずみ)	・ バルブが液漏れするまで調節ネジを緩めてから、バルブの液漏れが止まるまで締めて直して下さい。(ステーターの取付けを確実に行なうため、バルブに添付された説明書を参照してください。)
バルコバルブが動作中に異音がする	・ バルブがそのホームポジションに正しく取り付けられているかを確認してください(バルブをホームポジションで取り付ける際には、ユーザーズガイドをご覧ください)
バルコバルブの液漏れ	・ バルブが正しく配管されているかを確認してください。 ・ ローターシールを交換してください。 ・ ユニット交換が可能かどうかについては、弊社までお問い合わせください。

ディテクター

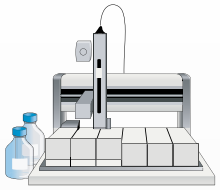


症状	原因と対策
ディテクターのランプが点灯しないあるいはランプが点灯中に消える	・ ディテクターの電源が入っているかチェックしてください。 ・ ヒューズが飛んでいないか確認してください。 ・ ランプのコネクターが緩んでいないか確認してください。 ・ ランプを交換してください（ユーザーガイドのメンテナンス方法を参照してください）。
ベースラインノイズが大きい	・ ランプのウォームアップに十分な時間をかけてください。（ユーザーガイドを参照） ・ 流量10 mL/min 未満の場合、システムから気泡を取り除くため、バックプレッシャーレギュレータを、ディテクターのフローセルのアウトレットチュービングの末端に設置してください。 ・ フローセルに気泡が入っている可能性がある – 流量をゆっくりと上げて、バックプレッシャ・レギュレータをアウトレットチュービングに注意深く取り付けてください。気泡を取り除いた後、流量を減らしてください。 ・ ランプの使用時間をチェックしてから、必要であればランプを交換してください。
ポンプの作動時のみ、ベースラインノイズが大きくなる	・ フローセルで気泡が発生しないように移動相を脱気してください。 ・ 移動相のインレットチュービングのラインをプライムしてください。 ・ 液漏れのあるフィッティングを締めるか、もしくは交換してください（インレットチュービングは注意して手で締めてください。） ・ カラムメーカーが指定する移動相で、カラムを洗浄してください。 ・ ポンプ溶媒が設定波長で吸収がないことを確認してください。
ポンプの作動中と停止後にベースラインノイズが大きくなる	・ 電気的な問題をチェックするため、送液していない時の圧力の出力値をモニターしてください。システム圧力は0 psi であるべきです。 ・ すべてのシステム機器の接地状態をチェックしてください。ディテクターと506Cインタフェースモジュールを1つの電源につないで、接地ループを取り除いてください。 ・ 問題についての詳細は、弊社にご連絡ください。
ベースラインのドリフト	・ ユーザーガイドにしたがって、ランプが暖まるまで待ってください。 ・ ドリフトの原因となるサンプルマトリクス残留物がないかカラムを調べてください。メーカーの説明書に従い、カラムをクリーニングしたり、カラムを交換してください。 ・ 移動相溶媒が新しく、脱気済みであるか確認してください。 ・ 両ポンプヘッドの流量が正確か調べてください。 ・ フローセルに液漏れがないか、インレットおよびアウトレットに劣化がないかをチェックしてください。
ベースラインに尖ったスパイクが出る	・ システムの送液を停止してください。 　・ スパイクが消えれば、問題が送液に関係していると考えられます。 　・ スパイクが続けば、電気的な問題が原因と考えられます。 ・ カラムアウトレットからディテクターに液漏れがないかチェックしてください。 ・ 移動相溶媒を脱気してください。 ・ 流量が10mL/min. 未満である場合、バックプレッシャレギュレータを設置して下さい。 ・ ディテクターは、別系統の電源につなぐ必要があるかもしれません。 ・ すべての接続箇所がしっかりとつながっているか調べてください。 ・ ディテクターランプが所定の位置にしっかりと取り付けられているか確認してください。 ・ すべてのシステム機器の接地を確認してください。ディテクターとインタフェースモジュールを同じアウトレットに接続して、接地ループを取り除いてください
ピークトップが平らになる	ディテクターの感度の設定が正しくない可能性があります。（ユーザーガイドを参照してください）

ディテクターのトラブルシューティングの続き

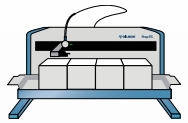
症状	原因と対策
ブロードピーク	・ ディテクターのリニアダイナミックレンジを越えていること、またはカラムのオーバーロードが原因である可能性があります。 ・ インジェクション量を減らしてください。 ・ サンプルを希釈してください。 ・ フローセルの汚れが原因である可能性があります。 ・ サンプルとカラム充填材との間で、吸着が起こっている可能性があります。 ・ カラムの温度を上げください。 ・ 移動相のpH を変更してください。 ・ 特性の異なるカラムに切替えてください。
ネガティブピーク	・ インタフェースモジュールにアナログ信号を送っている場合なら、ディテクターからの信号極性が逆になっているかもしれません。 ・ インタフェースモジュールへのディテクターからの信号のワイヤーの極性を替えてください。
既知のサンプル濃度対する応答が減少	・ アナログ信号を使用している場合、インタフェースモジュールへのすべての物理的な接続が確実に行なわれているかを調べてください。 ・ サンプルの濃度計算値を確認してください。 ・ インジェクションボリュームおよびインジェクション方法を確認してください。 ・ カラムの前に使用されているインラインガードカラムに詰まりや破損がないか調べてください。 ・ ディテクターのランプ使用時間が正常動作範囲であるか確認してください。
ピークが出ないまたはディテクターの応答がない	・ インジェクターがサンプルをすべてインジェクトしたことを確認してください。シリンジまたはインジェクションバルブを洗浄もしくは交換してください。 ・ インジェクションメソッドのインジェクションボリュームが正しいこと、および同期化がすべて正確であることをチェックしてください。 ・ 正しいラックであることおよびサンプル吸引時のサンプルポジションへのニードル降下高が正しいかを確認してください。 ・ ディテクターの設定値が正しいことをチェックしてください。
感度が低い	・ ユーザーガイドにしたがって、ランプが暖まるまで待ってください。 ・ ドリフトの原因となるサンプルマトリクス残留物がないかカラムを調べてください。 ・ メーカーの説明書に従い、カラムをクリーニングしたり、カラムを交換してください。 ・ 移動相溶媒が新しく、脱気済みであるか確認してください。 ・ 両ポンプヘッドの流量が正確か調べてください。 ・ フローセルに液漏れがないか、インレットおよびアウトレットに劣化がないかを ・ チェックしてください。
ピーク分離能が低下している	・ テーリングはカラムのオーバーロードが原因で起こることがあります。サンプルを希釈するか、サンプル量を少量にして注入してください。オーバーロード量はピーク形状の不良を招くことがあります。いずれの場合も、推奨として、Appendix Bの表を参照して下さい。 ・ 使用されているカラムと移動相が正しいことを確認してください。 ・ カラム寿命が短くなっているか、カラムの再生が必要である可能性があります。可能であればメーカーの指示に従って、カラムのクリーニングを行なってください。 ・ カラムを交換しなければならない可能性があります。
ディテクター信号がゼロになっていない	・ フローセルに気泡が見られることがあります。 ・ 移動相が汚染している恐れがあります。新しい移動相に取り替えてください。 ・ フローセルに汚染や液漏れがないか調べてください。 ・ システムの平衡化が完全でない可能性があります。操作流量でシステムへの送液を続けてください。

オートリキッドハンドラー／インジェクター



症状	原因と対策
GXソルベントシステムが液体の吸引および分注をしていない	・ ユーザーガイドに従って、廃液容器に接続されている最初のポートから配管接続が正しいことを確認してください。 ・ 液体ラインが溶媒でプライムされており、エアーが入っていないことを確認してください。
リキッドハンドラーのイジェクションバルブが液漏れしている	・ システムの送液を停止してください。 ・ フィッティングに液漏れがある場合、一旦フィッティングを緩めて外し、次に、締めすぎない程度に注意して液漏れが止まるまで締めてください。送液を開始して、液漏れが続くようであれば、フィッティング全体を交換してください。 ・ バルブの周辺に液漏れがある場合、ローターシールを交換してください（ユーザーガイドまたはバルブに添付された説明書を参照して下さい）。 ・ サンプルループのロード中にプローブの周辺で液体が漏れている場合、ループまたはループとバルブの接続部分を確認してください。 ・ インジェクションポートとバルブ間にキャリブレーティッドチューブングが使用されている場合、ユーザーガイドに従って、このチューブングを洗浄してください。 ・ 手動のインジェクションバルブを使用している場合、インジェクションループとフィッティングを洗浄または交換してください。
レオダインバルブに異常音がする（回転しにくい）	・ バルブから液が漏れるまで調整ねじを緩めてから、ちょうどバルブの液漏れが止まるまでバルブを締めて下さい。（ステーターを正しく取り付けるように、バルブに添付されたレオダインバルブ説明書を参照してください。）
215 リキッドハンドラーまたは XL サンプラーのYアーム（横）が動かない	・ アームのブラケットまたは止めネジがまだ付いたままです。XLサンプラーの場合、プラスのドライバーを使って、サンプラーの右側の止めネジを取り外してください。215 の場合、アレンスクリューを緩めて、横アームからアームブラケットを取り外してください。 ・ 流路やチューブング内に動作を止めそうなそうな障害がないか、リキッドハンドラーとサンプラーを観察してください。 ・ 215 にエラーがないかチェックしてください。 ・ チューブングの動きを妨げるようなものは何もないか確認してください。
402 または406 のダイリュータバルブのポートから液がオーバーフローしている	・ ダイリュータの排出口とインジェクションバルブとの間に詰まりがあります。以下に従って、詰まりの位置を確認してください。 1. ダイリュータからプローブまでの配管を洗浄して、背圧がかかる原因を取り除いてください。 2. 詰まりを取り除く為にプローブを洗浄または交換してください。 3. インジェクションポートを洗浄するか交換してください。 4. キャリブレーティッドチューブングがあれば、洗浄もしくは交換してください。 5. 移動相の送液中、30秒ごとに、ロードとインジェクトの位置を交互に切替えて、バルブを洗浄してください。 6. ダイリュータバルブのセラミック部分を超音波洗浄し、バルブを取り付け直してください。
Z アームが急に振動する	・ 弊社までお問い合わせください。
Z アームが間違ったベッド位置にアクセスし続けて、プローブが折れ曲がる	・ GX -2 XXリキッドハンドラーの場合は、添付されたOffset Utility ソフトウェアおよびユーザーガイドの説明に従って、新しいプローブで正しくオフセットしてください。 ・ 215 リキッドハンドラーの場合は、弊社までお問い合わせください。

フラクションコレクター



症状	原因と対策
フラクションコレクターが作動しない、あるいは応答しない	・ フラクションコレクターの電源が入っているか確認してください。 ・ ヒューズが飛んでいないか確認してください。
電源投入時、大きな音がする（FC203B,FC204）	・ フラクションコレクターの電源投入時毎に、ステッパーモーターおよびマイクロプロセッサーが基準点（‘ ホーム’ポジション—左背面）を確立しなければなりません。モーターがホームに戻る間に、数秒間の振動音がするのは異常ではありません。フラクションコレクターの電源投入後または停電後の復旧時には、このような振動音がします。
稼働中、XまたはY ポジションを変更する時、大きな音がする	・ 電源を切り、ドロップヘッドおよび水平アームを手で動かして、XまたはYの動きに問題がないかチェックしてください。全方向にスムーズかつ簡単に動かなければなりません。
滴下液がコレクションチューブに入らない	・ フラクションコレクターがキーパッドから操作されている場合、設置されたラックとラックコードが一致していることを確認してください。 ・ フラクションコレクターがPREPFC ™ Contorl ソフトウェアまたはTRILUTION LC ソフトウェアから操作されている場合、ベッドレイアウトのトレーとラックが正しく選択されていることを確認してください。 ・ ラックがトレーに正しく取り付けられているかラックの位置合わせを確認してください。 ・ ディテクターからのインレットチューブングに詰まりがないかチェックしてください。チューブングに圧着または損傷がある場合は、交換してください。 ・ 3ウェイバルブまたはドロップディテクターからのチューブング先端が所定の位置より上に押し上げられて折れ曲がっていないかチェックしてください。折れ曲がっていたらチューブングを交換してください。短すぎて、所定の位置より2 mm 以上下げることができないチューブングも交換してください。 ・ （FC203B,FC204,PREPFC ™の場合）フラクションコレクターの位置合わせ不良の可能性があります。フラクションコレクターの電源を切って、水平アーム部をチェックしてください。それでもなお、位置合わせ不良が見られる場合は、弊社にご連絡ください。 ・ （GX-281,GX-271の場合） オフセットユーティリティソフトウェア により、フラクションコレクターをオフセットする必要があるかもしれません。ユーザーガイドの指示に従ってください。 ・ （215 の場合） フラクションコレクターの位置合わせ不良の可能性があります。電源切断後も位置合わせ不良が続くのであれば、弊社にご連絡ください。
ドロップディテクターが滴下をカウントしないまたは誤ったカウントをしている	・ ドロップディテクターのチューブングが折れ曲がっていないことおよび長さが適当であるかチェックしてください（FC203B, FC204, PREPFC ™フラクションコレクターのユーザーガイドを参照してください） ・ ポンプからの流れが正しく、移動相ラインにエアーの混入がないことを確認してください。 ・ インレットチューブングのフィッティングが完全に締められていることを確認してください（ドロップディテクターが作動中は、チューブングを上下に動かさないでください。） ・ ドロップディテクターのチューブングが短すぎるか、長すぎる可能性があります。 ・ ドロップディテクターのチューブング先端に粒子が付着している可能性があります。 湿らせた綿棒でドロップディテクターの環状部を拭き取ってください。 ・ ドロップディテクター部に損傷がある可能性があります。弊社にご連絡ください。 ・ ディテクターから出ているチューブングがナットやフェラルから1mm 以上はみ出していないことを確認してください。3ウェイバルブに入り込むほどはみ出しているチューブングは、バルブの開閉の妨げになることがあります。 ・ チューブへの分取量が適切であるかどうか、キーパッドや制御ソフトウェアの設定を確認してください。

症状	原因と対策
ピークモード時 の分取不良	・ フラクションコレクターが、PREPFC ™ Contorl Software で制御されている場合、パラメータがシグナルのピーク形状と高さに合っていることを確認してください。 ・ フラクションコレクターがTRILUTION LCソフトウェアで制御されている場合、メソッドのフラクションコレクションシミュレーション機能を使って、異なるピークコレクションパラメータを試してください（詳しくはヘルプメニューをご覧ください）。パラメータがシグナルのピーク形状およびピーク高さに合っていることを確認してください。分取を開始するのに正しいデータシグナルが使われていることを確認してください（データチャンネルを右クリックし、プライマリチャネルがチェックマークで選択されていることを確認してください）。 ・ フラクションコレクターがスタンドアロンンモードで作動している場合、キーパッドのピークパラメータをチェックしてください： ・ スロープでピークを分取する時、分取したい最小ピークのmV にピーク高さを設定します。 ・ レベルで分取する時、ピークレベル分取の場合、設定したmV を越えたピークを分取します。 ・ ピーク幅は、半値幅の平均を設定します。 ・ リークがあれば取り除いてください。流量が 10 mL/min.未満であれば、バックプレッシャーレギュレータを設置してください。 ・ ディレイボリュームの容量または時間が正しく計算されており、かつ分取に使われているということを確認してください（流量が10 mL/min. 未満の場合）。
ピークモードで ピークを認識できない	・ ディテクターの入力電圧が、100mVフルスケールより小さいかチェックしてください。 ・ ソフトウェアにセットされているピークパラメータが、分取されるピークのサイズと形状にマッチしていることをチェックしてください。 ・ フラクションコレクターまたは506C （アナログ信号を使用している場合） へのディテクターシグナルの接続の極性をチェックして、逆に接続されていないか確認してください。 ・ フラクションコレクターのアナログインプットまたは506C がゼロに正しく合っていることを確認してください： 1. フラクションコレクターまたは506C の背面にあるバリアストリップのディテクターインプットのアナログシグナルワイヤーをディテクターから切り離してください。 2. 外したケーブルの＋と－を接続してショートさせます。 3. キーパッドを使用する場合、キーパッドのEDIT3 を押して、Service Menu を呼び出してください。フラクションコレクターのディスプレイにDetector A/D:xxx uVが読み込まれるまでNext ソフトキーを押します。ディスプレイを2,3 分間注視し、アナログインプットがゼロになっていることを確かめてください。実際の値が+/-20 uV である場合もあります。0 uV でなければ、ゼロソフトキーを押して、アナログインプットをゼロにしてください。メイン画面に戻るには、Quit ソフトキーを押します。 4. 506C とTRILUTION LCソフトウェアを使用している場合、Manual Control 画面を呼び出して、506C にAutozero タスクを送ります。シグナルが0 mV になっていることを確かめてください。 5. バリアストリップのディテクターインプットのショートを切り離し、ディテクターからのシグナルワイヤを接続してください。 ・ データシグナルのオートゼロを実施させる場合は、TRILUTION LCから506C のアウトプットを使って、コンタクトクロージャーパルスを送信します。506Cのタスクのオートゼロを使ってはいけません（506C で間違ってゼロにするという問題の発生を防止するものです）。

症状	原因と対策
3ウェイバルブが機能していないまたは正しく機能していない	・ フラクションコレクターの電源を切り、配線がソケットやバリアストリップへきちんと接続されいること、およびワイヤーが外れていないことを確認してください。 ・ コネクターが完全に設置できているかチェックしてください。 ・ ディテクターから出ているチュービングがナット／フェラルから1 mm より多くはみ出していないか確認してください。チュービングのはみ出しが3ウェイバルブに入るほど大きい場合は、バルブの開閉に支障をきたすことがあります。 ・ 流量がフラクションコレクターで使用されているバルブのタイプに合っていることを確認してください（標準仕様はユーザーガイドに記載しています）。 ・ 3ウェイバルブに損傷がある可能性があります → 弊社までお問い合わせください。
コンタクトクロージャのインプットまたはアウトプットが作動していない	・ ターミナルブロックコネクタまたはバリアストリップへの配線がしっかりと接続されていること、およびコネクタがフラクションコレクターの背面に完全に取り付けられていることを確認してください。 ・ バリヤストリップにおいて使用されているコンタクトクロージャのインプットあるいはアウトプットが正しいものであること、およびこれらが、キーパッドあるいは制御ソフトウェアプログラムのいずれかにマッチしていることを確認してください。 ・ インプットまたはアウトプットのクロージャを装備した装置との接続状態をチェックして、しっかりと接続されていること、および正しいピンが使用されていることを確認してください。また、ワイヤーが逆になっていないか確認してください。 ・ インプットのコンタクトクロージャをチェックするために、フラクションコレクターのインプットをショートさせてください。インプットが正常に作動できれば、次に外部装置からのアウトプットをチェックします。もし、インプットが作動できなければ、バリヤストリップコネクター、多目的インプット／アウトプットポートをチェックしてください。あるいは、弊社までお問い合わせください。 ・ 制御ソフトウェアを使用している時に、インプットのコンタクトクロージャをチェックするには、手動制御でコンタクトクロージャが働くことを確認してください。 ・ インプットの配線の極性をチェックしてください。インプットは、コンタクトクロージャーかTTL level です。（FC 203, 204 では、論理レベル0 が入力アクティブとなります。） ・ フラクションコレクターからのアウトプットシグナルは、コンタクトクロージャです。これは、外部装置にも対応していなければなりません。

終わりに

本書は、Gilson のHPLC システムの、機器とシステム両方のトラブルシューティングについて述べたものです。経験を通し、本書を参照用ツールとしてお使い頂くことができるでしょう。その時まで、ラボでの日常に役立つ必須ツールとしてライブラリに保管してください。

- 4ページの"HPLC トラブルシューティングチェックリスト"をプリントアウトすれば、システム観察結果の確認が、簡単に行えます。
- 6ページの"ソフトウェアのトラブルシューティングのチェックリスト"をプリントアウトすれば、ソフトウェアのエラーの原因を特定するのに役立ちます。
- 10ページの"ハードウェアコンポーネントの問題チェックリスト"を利用して、お使いのシステムのコンポーネントのどれが、どんな時、問題の原因になりうるかを特定するのにお役立て下さい。
- Gilson社のHPLCシステムを有効かつ最適に使用できるように、別版の各資料をご利用ください（本書の裏表紙をご覧ください）。

品質のポリシー

Gilson 社のポリシーは、世界中のすべてのGilson の組織全体が個々に品質に全力投球することを促進することです。製品の品質へのこだわりが、結果として、Gilson の製品とサービスの両方においてお客様の満足につながるということが、Gilson 社の最終目標です。

ISO 9001 認証

Gilson は、品質へのこだわりを、設計から、製造、技術サポート、研修に至るまでのすべてに生かすことに努めています。品質と顧客の満足についての取組みの結果、Gilson は、一貫してISO 9001 の認証を受けています。Gilson,Inc. およびGilson S.A.S. の両者とも、ISO 9001 の認証を受けています。

Appendix A: 流量に対するPEEK チュービングの圧力

流量に対するPEEK* チュービングの圧力			
流　量 (mL/min)	30″のチュービング（0.762 m）における圧力; psi		
	内径0.02 インチ	内径0.03インチ	内径0.04 インチ
25	0	0	0
50	43.5	0	0
75	101.5	0	0
100	203.1	14.5	0
125	333.6	43.5	0
150	464.1	87	14.5
175	623.7	101.5	14.5
200	797.7	145	29

Appendix B: カラムサイズと負荷容量

内径 (mm)	標準インジェクションボリューム(µL)	負荷容量 (mg)	標準流量 (mL/min)
4.6	15	1	0.5 – 2
10	100	4.7	4 – 15
21.2	400	19.5	10 – 50
30	1,000	42.5	40 – 100
50	2,000	118	100 – 300
100	10,000	473	400 – 1000

Appendix C: チュービングの内径と容量

チュービングの内径と容量				
Inch	Millimeter	Micron	µL/in	µL/mm
0.005	0.127	127	0.322	0.0127
0.01	0.254	254	1.287	0.0507
0.02	0.508	508	5.148	0.2027
0.03	0.762	762	11.583	0.456
0.04	1.016	1016	20.593	0.8107

温度単位変換式	
°C = °F – 32 ÷ 1.8	°C = 摂氏 °F = 華氏 °K = ケルビン温度 °R = レンキン温度
°C = °K – 273.15	
°F = 1.8 x °C + 32	
°F = °R – 459.67	
°K = °C + 273.15	
°R = °F + 459.67	

Appendix D:　圧力単位変換表

*測定単位	相当単位
Pounds per square inch (psi, PSI. lk/in^2, lb/sq in)	標準の大気圧は 14.7 psi
大気圧 (atm)	標準の大気圧は 14.7 psi) = 14.6956 psi = 760 torr
Bar (bar)	1 バール(bar) = 750.062 torr = 0.9869 atm =100,000 Pa
パスカル (Pa)	1 パスカル(Pa) は、1平方メートル当たり1ニュートン(N) の力に等しい。 1 ニュートン(N) ＝ 1kg・m/s 2　1 Nは1kg の質量をもつ物体に1m/s2 の加速度を生じさせる力。 1 パスカル(Pa) = 10 dyne/cm 2 = 0.01 mbar 1 気圧(atm) = 101,325 パスカル = 760 mm Hg = 760 toor =14.7 ps
キロパスカル (kPa)	1 キロパスカル(kPa) = 1,000 Pa 101.325 kPa = 1 気圧 = 760 torr 100 kPa = 1 bar = 750 tor
メガパスカル (MPa)	1 megapascal = 1,000 kPa = 1,000,000 Pa

http://www.sengpielaudio.com/ConvPress.htm より抜粋。

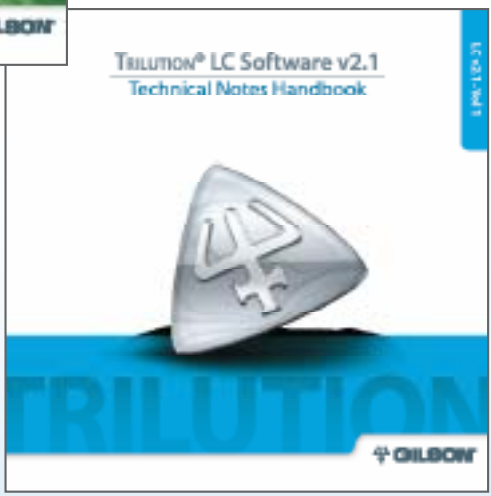
Appendix E：溶媒極性表

極性	化学式	グループ	代表的な溶媒成分
非極性	R - H	アルカン	石油エーテル、リグロイン、ヘキサン類
↓ 極性が強くなる	Ar - H	芳香族化合物	トルエン、ベンゼン
	R - O - R	エーテル	ジエチルエーテル
	R - X	ハロゲン化アルキル	テトラクロロメタン、クロロホルム
	R - COOR	エーテル	エチルアセテート
	R - CO - R	アルデヒド類およびケトン類	アセトン、エチルメチル、ケトン
	R - NH_2	アミン類	ピリジン、トリエチルアミン
	R - OH	アルコール	メタノール、エタノール、イソプロパノール、ブタノール
	R - $COHN_2$	アミド類	ジメチルホルムアミド
	R - COOH	カルボン酸系	酢酸
極性	H - OH	水	水

Gilson社発刊のその他の資料

Quarterly Gilson Application Notes Handbook

GILSON
ISO 9001



TRILUTION® LC Technical Notes Handbook Series

上記の資料をご希望であれば、弊社にお問い合わせください。

発行 エムエス機器株式会社 No. 7GIL0001/1 (LT318017-04)

http://www.technosaurus.co.jp
東京 〒162-0805東京都新宿区矢来町113番地 TEL:03-3235-0661(代)
大阪 〒532-0005大阪市淀川区三国本町2丁目12番4号 TEL:06-6396-0501(代)
福岡 〒812-0054福岡市東区馬出1丁目2番23号 TEL:092-631-1012(代)

表紙へ